

УДК 547.857.7; 577.151.042; 577.152.242

МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРУКТУРЫ КОМПЛЕКСА тРНК-ГУАНИНТРАНСГЛИКОЗИЛАЗЫ ЧЕЛОВЕКА С 7-МЕТИЛГУАНИНОМ И ВЫЯВЛЕНИЕ ФАКТОРОВ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФЕРМЕНТА С ИНГИБИТОРАМИ*

© 2022 С.В. Пушкарев¹, В.А. Винник², И.В. Шаповалова¹,
В.К. Швядас^{1,3}, Д.К. Нилов^{3**}

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
факультет биоинженерии и биоинформатики, 119991 Москва, Россия

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
факультет фундаментальной медицины, 119991 Москва, Россия

³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,
119991 Москва, Россия; электронная почта: nilovdm@gmail.com

Поступила в редакцию 21.02.2022

После доработки 22.03.2022

Принята к публикации 23.03.2022

тРНК-Гуанинтрансгликозилаза, катализирующая замену гуанина на кьюин в тРНК человека и участвующая в механизме трансляции, вовлечена в развитие рака, однако информация о низкомолекулярных ингибиторах, способных подавлять активность данного фермента, весьма ограничена. С помощью молекулярно-динамических симуляций определены аминокислотные остатки, обеспечивающие эффективное связывание ингибиторов в активном центре тРНК-гуанинтрансгликозилазы. На примере молекулы 7-метилгуанина продемонстрировано, что ключевую роль в комплексообразовании играет способность ингибитора переходить в заряженную форму в окружении остатков Asp105 и Asp159, являющихся акцепторами водородных связей. Также имеет значение формирование водородных связей и гидрофобных контактов с остатками Gln202, Gly229, Phe109 и Met259. Предсказано, что введение заместителей будет по-разному влиять на способность ингибировать тРНК-гуанинтрансгликозилазу, а также белок репарации ДНК поли(ADP-рибозо)полимеразу 1, что может способствовать созданию более эффективных и селективных соединений.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тРНК-гуанинтрансгликозилаза, кьюин, ингибитор, 7-метилгуанин, молекулярная динамика, докинг.

DOI: 10.31857/S0320972522040078, **EDN:** AQVMIM

ВВЕДЕНИЕ

тРНК-Гуанинтрансгликозилаза (ТГТ) катализирует замену гуанина на кьюин (производное 7-дезагуанина, рис. 1) в тРНК^{Asn}, тРНК^{Asp}, тРНК^{His} и тРНК^{Tyr} в позиции 34 (первый нуклеотид антикодона) [1–4]. Данная модификация, предположительно, оказывает влияние на эффективность аминоацилирования тРНК, рас-

познавание кодон–антикодон, скорость и точность трансляции [5–7]. Эукариотический белок ТГТ представляет собой гетеродимер, состоящий из каталитической субъединицы QTRT1 и некаталитической субъединицы QTRT2 [8]. Для QTRT1 была определена кристаллическая структура комплекса с субстратом кьюином [4]. Согласно предложенной кинетической схеме действия эукариотического фермента, первой в активном центре ТГТ связывается молекула кьюина, второй – тРНК, и затем происходит отщепление гуанина с образованием интермедиата, в котором тРНК ковалентно связана с остатком Asp279. Дальнейшее превращение интермедиата приводит к образованию конечного продукта реакции – модифицированной кьюином тРНК [9].

Принятые сокращения: 7-МГ – 7-метилгуанин; МД – молекулярная динамика; ПАРП-1 – поли(ADP-рибозо)полимераза 1; ТГТ – тРНК-гуанинтрансгликозилаза.

* Приложение к статье опубликовано на сайте журнала «Биохимия».

** Адресат для корреспонденции.

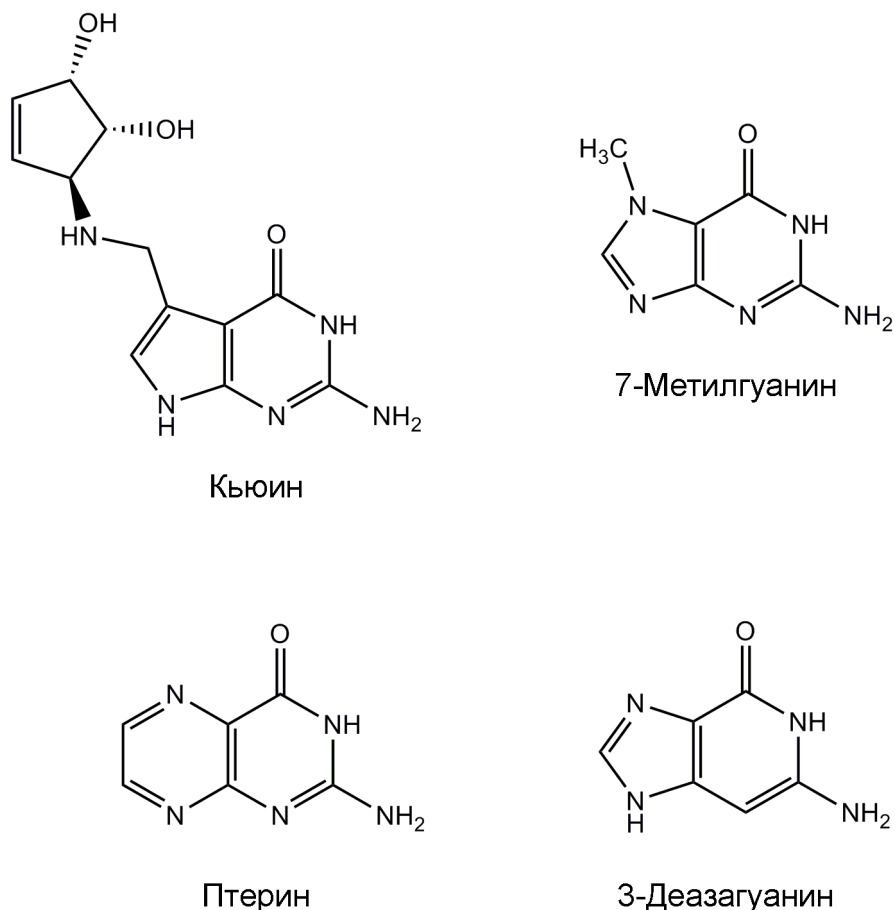


Рис. 1. Химические структуры субстрата и известных ингибиторов ТГТ

В недавних экспериментах была продемонстрирована важная роль ТГТ в развитии рака молочной железы [10, 11]. Оказалось, что при недостатке ТГТ существенно снижается пролиферация и миграция опухолевых клеток *in vitro* (линии MCF7 и MDA-MB-231) и *in vivo* (голые мыши BALB/c с соответствующими перевитыми опухолями). В частности, нокаут/нокдаун гена ТГТ в раковых клетках приводит к уменьшению числа и объема опухолей в ксенографтной модели заболевания. Также следует упомянуть, что повышенная экспрессия ТГТ была обнаружена у пациентов с диагностированным раком легких, причем уровень экспрессии коррелирует с выживаемостью [12, 13]. Вовлеченность ТГТ человека в патологические процессы свидетельствует о необходимости разработки и тестирования селективных ингибиторов данного белка.

Подавление активности ТГТ человека с помощью низкомолекулярных соединений на данный момент мало изучено. Основным источником информации о потенциальных ингибиторах является работа, посвященная исследованию

структурных аналогов субстрата с использованием ТГТ из ретикулоцитов кролика [14]. 7-Метилгуанин (7-МГ, природное азотистое основание) оказался одним из наиболее эффективных ингибиторов, конкурентным в отношении кьюина (рис. 1, $K_i = 1$ мкМ) [14, 15]. В ряде других работ было показано, что 7-МГ также способен подавлять активность бактериальной ТГТ [16, 17]. Выравнивание последовательностей ТГТ различных организмов, демонстрирующее консервативность аминокислотных остатков активного центра, представлено на рис. S1 в Приложении. Интересно, что 7-МГ подавляет активность белка человека поли(ADP-рибозо)полимеразы 1 (ПАРП-1, $K_i = 60$ мкМ) [18–21], играющего важную роль в патологиях сердечно-сосудистой, нервной, дыхательной систем, а также в онкологических заболеваниях [22–25]. Для клинического применения ингибиторов ТГТ может требоваться более селективное воздействие на мишень, поэтому большой интерес представляет структурная оптимизация 7-МГ и его аналогов.

В представленной работе осуществлено моделирование взаимодействия ТГТ человека с ингибитором 7-МГ и даны рекомендации по дальнейшей разработке более эффективных и селективных ингибиторов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для молекулярно-механического описания 7-МГ в заряженной форме использовали параметры Amber-совместимого поля *ff99* [26] за исключением частичных зарядов. Подбор зарядов на атомах осуществляли методом RESP (рис. S2) [27, 28]. Для этого предварительно рассчитывали молекулярный электростатический потенциал на HF/6-31G* уровне теории с помощью GAMESS [29]. Параметры незаряженной молекулы 7-МГ были получены аналогичным образом в нашей предыдущей работе [18]. Для описания аминокислотных остатков белка использовали силовое поле *ff14SB* с улучшенными торсионными параметрами [30].

Молекулярную модель ТГТ человека конструировали на основе кристаллической структуры фермент-субстратного комплекса, содержащего молекулу кьюина (PDB ID 6h45, цепь A) [4]. Координаты участков структуры Arg68–His93 и Asn101–Asp105 перенесли из структуры 7nq4 [31]. Координаты ингибитора 7-МГ в активном центре получили путем наложения конденсированных колец 7-МГ и кьюина. Далее структуру фермент-ингибиторного комплекса оптимизировали и исследовали методом молекулярной динамики (МД) с помощью AmberTools 20 и Amber 20 [32–34]. Атомы водорода добавляли с учетом ионизационных свойств аминокислотных остатков, при протонировании боковых цепей гистидинов рассматривали их молекулярное окружение. Структуру помещали в усеченную октаэдрическую ячейку воды TIP3P (минимальное расстояние от белка до грани ячейки составляло 12 Å), для нейтрализации суммарного заряда добавляли ионы Cl⁻.

На первой стадии минимизации энергии полученной системы (2500 шагов по методу наискорейшего спуска + 2500 шагов по методу сопряженных градиентов) координаты белка и 7-МГ фиксировали позиционными ограничениями 2 ккал/(моль·Å²) на тяжелых атомах. Вторую стадию минимизации (5000 шагов наискорейшего спуска + 5000 шагов по методу сопряженных градиентов) проводили без каких-либо ограничений. Затем систему разогревали от 0 до 300 К с использованием позиционных ограничений 1 ккал/(моль·Å²) на атомах белка и 7-МГ (250 пс, постоянный объем) и уравнивали

при 300 К (25 нс, постоянное давление). Достижение равновесной конформации комплекса подтверждали путем анализа среднего квадратичного отклонения атомов остова белка от начального положения (подвижные петли и концевые остатки белка при этом не рассматривались). Далее рассчитывали и анализировали траекторию равновесной симуляции МД длиной 100 нс. Более подробные протоколы симуляций приведены в табл. S1 в Приложении. Расчеты проводили на суперкомпьютере «Ломоносов-2» с использованием графических ускорителей Nvidia Tesla K40M.

Докинг молекулы 7-МГ в активный центр ТГТ осуществляли с помощью программы Lead Finder 1708 в режиме «extra precision» [35, 36], потенциальная решетка охватывала участок связывания молекулы кьюина. Для визуализации полученных структур использовали программу VMD 1.9 [37].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Модель ТГТ человека была сконструирована на основе кристаллической структуры 6h45, описывающей взаимодействие каталитической субъединицы QTRT1 с субстратом кьюином. В целом данный комплекс с разрешением 2,4 Å хорошо подходил для подготовки стартовой модели, однако некоторые участки белковой цепи было решено заимствовать из структуры 7nq4, полученной теми же авторами. Первый участок, Arg68–His93, менее упорядочен в 6h45 по сравнению с другими структурами ТГТ, что может быть связано с условиями кристаллизации. Через сеть водородных связей остатки Arg68–His93 оказывают влияние на конформацию еще одного участка, Asn101–Asp105, который был также взят из структуры 7nq4.

При моделировании связывания 7-МГ в активном центре ТГТ учитывали ионизационные свойства данного ингибитора. Ранее исследовалось взаимодействие структурно похожих соединений с бактериальной ТГТ с применением методов изотермической калориметрии, сайт-направленного мутагенеза и рентгеноструктурного анализа. Было сделано предположение о том, что наличие в активном центре двух отрицательно заряженных остатков аспартата, Asp105 и Asp159 (нумерация ТГТ человека), способствует переходу ингибиторов в положительно заряженную форму при связывании [38, 39]. Соответствующий переход для 7-МГ (протонирование атома N3) представлен на рис. 2. Положительно заряженный ингибитор способен более эффективно взаимодействовать с Asp105 и

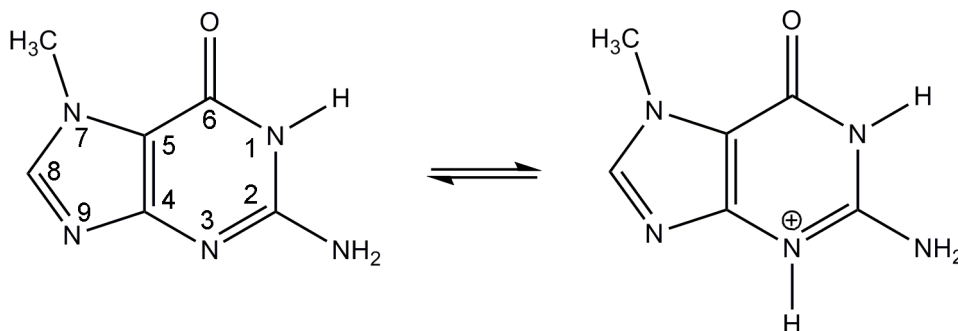


Рис. 2. Предполагаемый переход 7-МГ в заряженную форму при связывании в активном центре ТГТ

Asp159, поэтому 7-МГ было решено моделировать как в заряженной форме, так и нейтральной форме (в качестве контроля).

7-МГ является конкурентным ингибитором ТГТ и структурным аналогом субстрата кьюина, поэтому его связывание должно происходить схожим образом. Стартовое положение 7-МГ в активном центре модели ТГТ соответствовало координатам 7-деазагуанинового фрагмента кьюина. Далее осуществили уравнивание фермент-ингибиторного комплекса и расчет 100 нс траектории симуляции МД, анализ которой позволил охарактеризовать межмолекулярные взаимодействия (таблица, рис. 3). Прежде всего следует упомянуть образование водородных связей 7-МГ с Asp159 и Asp105, поскольку взаимодействие делокализованного положительного заряда ингибитора с отрицательно заряженными карбоксильными группами может вносить существенный вклад в энергию связывания. При этом одна из связей с Asp105 реализуется

через протонированный атом азота N3. Дополнительные водородные связи формируются с остатками Gln202 и Gly229. Пуриновые кольца 7-МГ образуют π -стэкинг с Phe109, а также гидрофобный контакт с боковой цепью Met259. Метильная группа 7-МГ контактирует с бензольным кольцом Phe109.

Моделирование комплексообразования ТГТ с нейтральной формой 7-МГ показало существенное снижение устойчивости взаимодействий с остатками активного центра по сравнению с заряженной формой. Водородные связи с остатками Asp159 и Gly229 носили эпизодический характер, что сказалось на среднем расстоянии между атомами, а связи с Asp105 и Gln202 фактически были утрачены (табл. S2 в Приложении). При этом боковая цепь Asp105 оказалась отвернутой от молекулы ингибитора (рис. S3 и S4 в Приложении), что, очевидно, связано с отсутствием протона на N3-атоме. Примечательно, что у родственного соединения 3-деазагуанина, в котором N3-атом заменен на углерод (рис. 1), ингибиторная активность на два порядка ниже, чем у 7-МГ [14]. Таким образом, можно заключить, что эффективное связывание молекулы 7-МГ в активном центре ТГТ возможно благодаря ее переходу в положительно заряженную форму.

Поскольку 7-МГ ингибирует также белок репарации ДНК ПАРП-1, который не обладает сходством с ТГТ по последовательности, необходимо определить структурные факторы, обуславливающие возможность его связывания с двумя разными мишенями, а также возможные пути модификации ингибитора для более селективного действия. Ранее было экспериментально показано, что важным условием для эффективного связывания пуриновых производных и аналогов с ТГТ и ПАРП-1 является наличие аминогруппы в положении 2 и оксогруппы в положении 6 [14, 18]. В случае ТГТ аминогруппа образует упомянутые выше водородные связи с Asp105 и Asp159 (рис. 3), а в случае ПАРП-1 –

Взаимодействия заряженной формы 7-МГ в активном центре ТГТ человека, обнаруженные в результате 100 нс симуляции МД. Приведены средние значения расстояний вместе со стандартным отклонением

Взаимодействие	Расстояние, Å
7-МГ:N1:H ... Asp159:OD2	1,8 ± 0,1
7-МГ:N2:H ... Asp159:OD1	1,8 ± 0,1
7-МГ:N2:H ... Asp105:OD1	1,9 ± 0,1
7-МГ:N3:H ... Asp105:OD2	1,9 ± 0,1
7-МГ:O6 ... Gln202:NE2:H	2,7 ± 0,7
7-МГ:O6 ... Gly229:N:H	2,5 ± 0,5
C(7-МГ конд. кольца)* ... C(Phe109 бенз. кольцо)**	3,8 ± 0,2
C(7-МГ конд. кольца) ... Met259:SD	3,7 ± 0,3

* Геометрический центр конденсированных колец 7-МГ.

** Геометрический центр бензольного кольца Phe109.

взаимодействует с ключевым остатком Gly863 (рис. 4). Оксогруппа образует водородные связи с остатками Gln202 и Gly229 ТГТ и с остатками Gly863 и Ser904 ПАРП-1. Отдельно следует обратить внимание на высокое сходство взаимодействия типа π -стэкинг: в случае ТГТ оно реализуется боковой цепью Phe109, а в случае ПАРП-1 – боковой цепью Tyr907. Совокупность данных взаимодействий обуславливает возможность связывания ингибиторов как с ТГТ, так и с ПАРП-1.

Подходящими путями для оптимизации структуры 7-МГ и его аналогов является модификация аминогруппы в положении 2 или метильной группы в положении 7. Первый вариант подходит для конструирования ингибиторов ПАРП-1, поскольку введенный заместитель ориентируется в направлении дополнительного участка связывания адениновой группы NAD^+ (рис. 4, а). В случае ТГТ аминогруппа образует водородные связи с Asp105 и Asp159, поэтому любая ее модификация приведет к нарушению данных взаимодействий [40]. Второй вариант (модификация метильной группы), напротив, не подходит для ПАРП-1, поскольку соответствующий связывающий карман, образованный с участием остатка Ala898 (рис. 4, б), весьма ограничен по размеру. В случае ТГТ метильная группа 7-МГ направлена в сторону участка связывания циклопентенового фрагмента кьюина,

образованного остатками Val161–Ser164 и Gly229–Gly232. Данный участок способен взаимодействовать с разнообразными группами атомов, что подтверждается широкой субстратной специфичностью ТГТ человека, продемонстрированной с использованием синтетических производных 7-деазагуанина [41].

Молекулярная модель ТГТ человека позволяет осуществлять поиск ингибиторов с использованием методов докинга и компьютерного скрининга. Наиболее перспективные соединения могут быть отобраны из обширной библиотеки в результате оценки энергии связывания и анализа взаимодействий с наиболее важными аминокислотными остатками [42–44]. В качестве иллюстративного примера нами был осуществлен докинг молекулы 7-МГ в отношении ансамбля структур ТГТ, полученного в результате МД-симуляции. Для этой цели из 100 нс траектории равновесной симуляции ТГТ извлекли структуры с шагом 10 нс и удалили из них молекулы воды и ингибитора. Далее 7-МГ докировали в область, охватывающую участок связывания субстрата кьюина, и таким образом получили ансамбль фермент-ингибиторных комплексов (рис. S5 в Приложении). Анализ полученных моделей показал, что докинг хорошо воспроизводит описанные выше взаимодействия 7-МГ с аминокислотными остатками ТГТ. Среднее по ансамблю значение свободной энергии

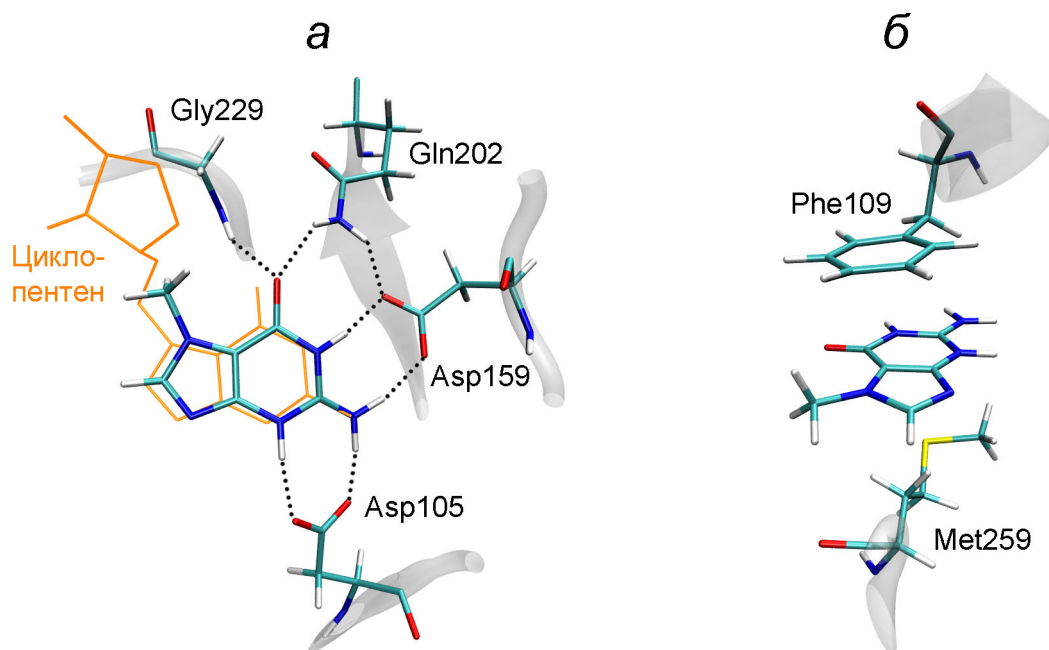


Рис. 3. Позиция 7-МГ в активном центре ТГТ человека, определенная с помощью МД-моделирования. *А* – Взаимодействие с полярными остатками; *б* – взаимодействие с гидрофобными остатками. Оранжевым цветом показана молекула кьюина, перенесенная из структуры bh45 после наложения по α -атомам

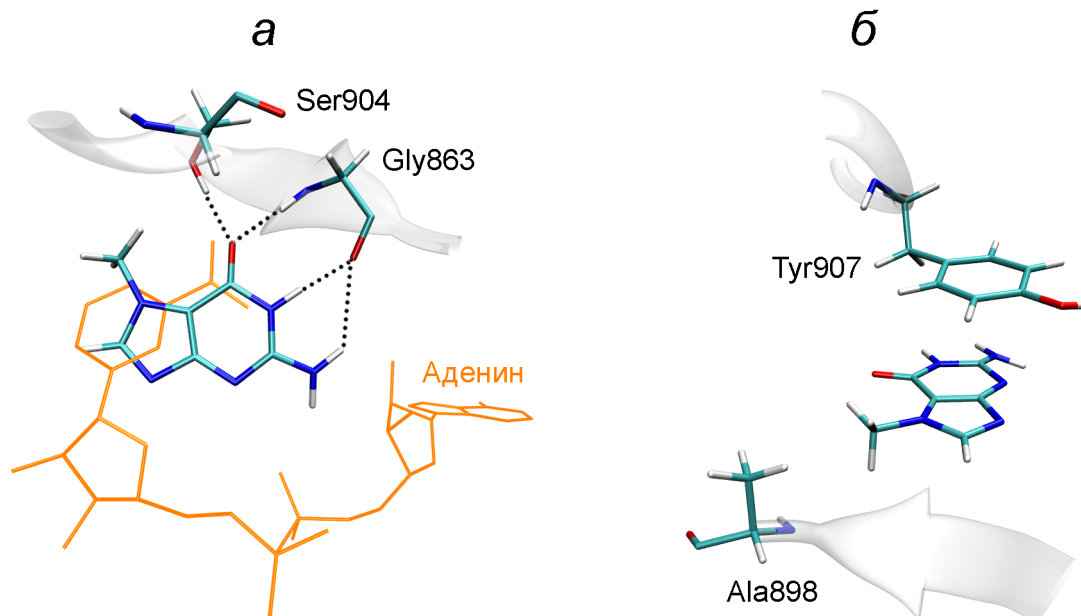


Рис. 4. Позиция 7-МГ в активном центре ПАРП-1 человека, определенная в предыдущей работе [19]. *a* – Взаимодействие с полярными остатками; *б* – взаимодействие с гидрофобными остатками. Оранжевым цветом показана молекула NAD⁺, перенесенная из структуры 6bhv после наложения по C α -атомам

связывания ΔG^{calc} составило $-7,4$ ккал/моль. Согласно формуле $\Delta G = RT \ln(K_i)$, такое значение энергии соответствует константе ингибирования 4 мкМ, что хорошо согласуется с экспериментальными данными ($K_i = 1$ мкМ) [14].

Проведенное исследование позволило сделать ряд выводов, важных для разработки ингибиторов ТГТ человека – перспективной мишени для лечения онкологических заболеваний. (1) Ингибитор может переходить в заряженную форму при связывании в активном центре ТГТ в окружении Asp105 и Asp159, что приводит к образованию более устойчивых водородных связей с этими остатками. Данная особенность важна с точки зрения эффективного транспорта через мембрану, поскольку ингибитор приобретает положительный заряд лишь при связывании с белком-мишенью внутри клетки. (2) При конструировании ингибитора следует также учитывать возможность образования водородных связей и гидрофобных контактов с остатка-

ми Gln202, Gly229, Phe109 и Met259. (3) Более селективное взаимодействие ингибитора с ТГТ может быть достигнуто путем наращивания структуры в сторону участка связывания циклопентеновой группы субстрата, образованного остатками Val161–Ser164 и Gly229–Gly232.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 19-74-10072).

Благодарности. Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nishimura, S. (1983) Structure, biosynthesis, and function of queuosine in transfer RNA, *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, **28**, 49-73.
2. Morris, R. C., and Elliott, M. S. (2001) Queuosine modification of tRNA: a case for convergent evolution, *Mol. Genet. Metab.*, **74**, 147-159.
3. Eric Thomas, C., Chen, Y. C., and Garcia, G. A. (2011) Differential heterocyclic substrate recognition by, and pteridine inhibition of *E. coli* and human tRNA-guanine transglycosylases, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **410**, 34-39.
4. Johannsson, S., Neumann, P., and Ficner, R. (2018) Crystal structure of the human tRNA guanine transglycosylase catalytic subunit QTRT1, *Biomolecules*, **8**, 81.
5. Fergus, C., Barnes, D., Alqasem, M. A., Kelly, V. P. (2015) The queuine micronutrient: charting a course from microbe to man, *Nutrients*, **7**, 2897-2929.

6. Tuorto, F., Legrand, C., Cirzi, C., Federico, G., Liebers, R., et al. (2018) Queuosine-modified tRNAs confer nutritional control of protein translation, *EMBO J.*, **37**, e99777.
7. Müller, M., Legrand, C., Tuorto, F., Kelly, V. P., Atlasi, Y., et al. (2019) Queuine links translational control in eukaryotes to a micronutrient from bacteria, *Nucleic Acids Res.*, **47**, 3711-3727.
8. Chen, Y. C., Kelly, V. P., Stachura, S. V., and Garcia, G. A. (2010) Characterization of the human tRNA-guanine transglycosylase: Confirmation of the heterodimeric subunit structure, *RNA*, **16**, 958-968.
9. Alqasem, M. A., Fergus, C., Southern, J. M., Connon, S. J., and Kelly, V. P. (2020) The eukaryotic tRNA-guanine transglycosylase enzyme inserts queuine into tRNA via a sequential bi-bi mechanism, *Chem. Commun. (Camb.)*, **56**, 3915-3918.
10. Zhang, J., Lu, R., Zhang, Y., Matuszek, Z., Zhang, W., Xia, Y., et al. (2020) tRNA queuosine modification enzyme modulates the growth and microbiome recruitment to breast tumors, *Cancers (Basel)*, **12**, 628.
11. Kumari, K., Groza, P., and Aguilo, F. (2021) Regulatory roles of RNA modifications in breast cancer, *NAR Cancer*, **3**, zcab036.
12. Ma, Q., and He, J. (2020) Enhanced expression of queuine tRNA-ribosyltransferase 1 (QTRT1) predicts poor prognosis in lung adenocarcinoma, *Ann. Transl. Med.*, **8**, 1658.
13. Bian, M., Huang, S., Yu, D., and Zhou, Z. (2021) tRNA metabolism and lung cancer: beyond translation, *Front. Mol. Biosci.*, **8**, 659388.
14. Farkas, W. R., Jacobson, K. B., and Katze, J. R. (1984) Substrate and inhibitor specificity of tRNA-guanine ribosyltransferase, *Biochim. Biophys. Acta*, **781**, 64-75.
15. Muralidhar, G., Utz, E. D., Elliott, M. S., Katze, J. R., and Trewyn, R. W. (1988) Identifying inhibitors of queuine modification of tRNA in cultured cells, *Anal. Biochem.*, **171**, 346-351.
16. Hoops, G. C., Townsend, L. B., and Garcia, G. A. (1995) tRNA-guanine transglycosylase from *Escherichia coli*: structure-activity studies investigating the role of the aminomethyl substituent of the heterocyclic substrate PreQ1, *Biochemistry*, **34**, 15381-15387.
17. Goodenough-Lashua, D. M., and Garcia, G. A. (2003) tRNA-guanine transglycosylase from *E. coli*: A ping-pong kinetic mechanism is consistent with nucleophilic catalysis, *Bioorg. Chem.*, **31**, 331-344.
18. Нилов Д. К., Тараров В. И., Куликов А. В., Захаренко А. Л., Гущина И. В., и др. (2016) Ингибирование поли(ADP-рибозо)полимеразы метаболитом нуклеиновых кислот 7-метилгуанином, *Acta Naturae*, **8**, 120-128.
19. Nilov, D., Maluchenko, N., Kurgina, T., Pushkarev, S., Lys, A., et al. (2020) Molecular mechanisms of PARP-1 inhibitor 7-methylguanine, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 2159.
20. Нилов Д. К., Пушкарев С. В., Гущина И. В., Манасарян Г. А., Кирсанов К. И., и др. (2020) Моделирование фермент-субстратных комплексов поли(ADP-рибозо)полимеразы 1 человека, *Биохимия*, **85**, 116-125.
21. Manasaryan, G., Suplatov, D., Pushkarev, S., Drobot, V., Kuimov, A., et al. (2021) Bioinformatic analysis of the nicotinamide binding site in poly(ADP-ribose) polymerase family proteins, *Cancers (Basel)*, **13**, 1201.
22. Alemasova, E. E., and Lavrik, O. I. (2019) Poly(ADP-ribosylation) by PARP1: reaction mechanism and regulatory proteins, *Nucleic Acids Res.*, **47**, 3811-3827.
23. Lord, C. J., Tutt, A. N., and Ashworth, A. (2015) Synthetic lethality and cancer therapy: lessons learned from the development of PARP inhibitors, *Annu. Rev. Med.*, **66**, 455-470.
24. Henning, R. J., Bourgeois, M., and Harbison, R. D. (2018) Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) and PARP inhibitors: Mechanisms of action and role in cardiovascular disorders, *Cardiovasc. Toxicol.*, **18**, 493-506.
25. Berger, N. A., Besson, V. C., Boulares, A. H., Bürkle, A., Chiarugi, A., et al. (2018) Opportunities for the repurposing of PARP inhibitors for the therapy of non-oncological diseases, *Br. J. Pharmacol.*, **175**, 192-222.
26. Wang, J., Cieplak, P., and Kollman, P. A. (2000) How well does a restrained electrostatic potential (RESP) model perform in calculating conformational energies of organic and biological molecules? *J. Comput. Chem.*, **21**, 1049-1074.
27. Bayly, C. I., Cieplak, P., Cornell, W. D., and Kollman, P. A. (1993) A well-behaved electrostatic potential based method using charge restraints for deriving atomic charges: The RESP model, *J. Phys. Chem.*, **97**, 10269-10280.
28. Dupradeau, F. Y., Pigache, A., Zaffran, T., Savineau, C., Lelong, R., et al. (2010) The R.E.D. tools: Advances in RESP and ESP charge derivation and force field library building, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **12**, 7821-7839.
29. Barca, G. M. J., Bertoni, C., Carrington, L., Datta, D., De Silva, N., et al. (2020) Recent developments in the general atomic and molecular electronic structure system, *J. Chem. Phys.*, **152**, 154102.
30. Maier, J. A., Martinez, C., Kasavajhala, K., Wickstrom, L., Hauser, K. E., et al. (2015) ff14SB: improving the accuracy of protein side chain and backbone parameters from ff99SB, *J. Chem. Theory Comput.*, **11**, 3696-3713.
31. Sievers, K., Welp, L., Urlaub, H., and Ficner, R. (2021) Structural and functional insights into human tRNA guanine transglycosylase, *RNA Biol.*, **18**, 382-396.
32. Case, D. A., Belfon, K., Ben-Shalom, I. Y., Brozell, S. R., Cerutti, D. S., et al. (2020) AMBER 2020. University of California, San Francisco.
33. Salomon-Ferrer, R., Götz, A. W., Poole, D., Le Grand, S., and Walker, R. C. (2013) Routine microsecond molecular dynamics simulations with AMBER on GPUs. 2. Explicit solvent Particle Mesh Ewald, *J. Chem. Theory Comput.*, **9**, 3878-3888.
34. Roe, D. R., and Cheatham, T. E. 3rd. (2013) PTRAJ and CPPTRAJ: Software for processing and analysis of molecular dynamics trajectory data, *J. Chem. Theory Comput.*, **9**, 3084-3095.
35. Stroganov, O. V., Novikov, F. N., Stroylov, V. S., Kulkov, V., and Chilov, G. G. (2008) Lead finder: an approach to improve accuracy of protein-ligand docking, binding energy estimation, and virtual screening, *J. Chem. Inf. Model.*, **48**, 2371-2385.
36. Novikov, F. N., Stroylov, V. S., Zeifman, A. A., Stroganov, O. V., Kulkov, V., et al. (2012) Lead Finder docking and virtual screening evaluation with Astex and DUD test sets, *J. Comput. Aided Mol. Des.*, **26**, 725-735.
37. Humphrey, W., Dalke, A., and Schulten, K. (1996) VMD: visual molecular dynamics, *J. Mol. Graph.*, **14**, 33-38.
38. Neeb, M., Czodrowski, P., Heine, A., Barandun, L. J., Hohn, C., et al. (2014) Chasing protons: how isothermal titration calorimetry, mutagenesis, and pKa calculations trace the locus of charge in ligand binding to a tRNA-binding enzyme, *J. Med. Chem.*, **57**, 5554-5565.
39. Hohn, C., Härtsch, A., Ehrmann, F. R., Pfaffeneder, T., Trapp, N., et al. (2016) An immucillin-based transition-state-analogous inhibitor of tRNA-guanine transglycosylase (TGT), *Chemistry*, **22**, 6750-6754.
40. Barandun, L. J., Immekus, F., Kohler, P. C., Tonazzi, S., Wagner, B., et al. (2012) From *lin*-benzoguanines to *lin*-benzohypoxanthines as ligands for *Zymomonas mobilis* tRNA-guanine transglycosylase: Replacement of protein-ligand hydrogen bonding by importing water clusters, *Chemistry*, **18**, 9246-9257.
41. Fergus, C., Al-Qasem, M., Cotter, M., McDonnell, C. M., Sorrentino, E., et al. (2021) The human tRNA-guanine transglycosylase displays promiscuous nucleobase preference but strict tRNA specificity, *Nucleic Acids Res.*, **49**, 4877-4890.

42. Li, Q., and Shah, S. (2017) Structure-based virtual screening, *Methods Mol. Biol.*, **1558**, 111-124.
43. Batool, M., Ahmad, B., and Choi, S. (2019) A structure-based drug discovery paradigm, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 2783.
44. Gushchina, I. V., Polenova, A. M., Suplatov, D. A., Švedas, V. K., and Nilov, D. K. (2020) vsFilt: a tool to improve virtual screening by structural filtration of docking poses, *J. Chem. Inf. Model.*, **60**, 3692-3696.

**MODELING THE STRUCTURE OF HUMAN tRNA-GUANINE
TRANSGLYCOSYLASE IN COMPLEX WITH 7-METHYLGUANINE
AND REVEALING THE FACTORS THAT DETERMINE
THE ENZYME INTERACTION WITH INHIBITORS***

S. V. Pushkarev¹, V. A. Vinnik², I. V. Shapovalova¹, V. K. Švedas^{1,3}, and D. K. Nilov^{3}**

¹ *Lomonosov Moscow State University, Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, 119991 Moscow, Russia*

² *Lomonosov Moscow State University, Faculty of Medicine, 119991 Moscow, Russia*

³ *Lomonosov Moscow State University, Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, 119991 Moscow, Russia; e-mail: nilovdm@gmail.com*

tRNA-guanine transglycosylase, which catalyzes the replacement of guanine with quinine in human tRNA and participates in the translation mechanism, is involved in the development of cancer. However, information on small-molecule inhibitors that can suppress the activity of this enzyme is very limited. Molecular dynamics simulations were used to determine the amino acid residues that provide efficient binding of inhibitors in the active site of tRNA-guanine transglycosylase. Using a probe 7-methylguanine molecule, it was demonstrated that the ability of the inhibitor to transit into a charged form in the environment of hydrogen bond acceptors Asp105 and Asp159 plays a key role in complex formation. The formation of hydrogen bonds and hydrophobic contacts with Gln202, Gly229, Phe109, and Met259 residues is also important. It has been predicted that the introduction of substituents will have a different effect on the ability to inhibit tRNA-guanine transglycosylase, as well as the DNA repair protein poly(ADP-ribose)polymerase I, which can contribute to the development of more efficient and selective compounds.

Keywords: tRNA-guanine transglycosylase, queine, inhibitor, 7-methylguanine, molecular dynamics, docking