

СТРУКТУРА МАКРОМОЛЕКУЛЯРНЫХ  
СОЕДИНЕНИЙ

УДК 538.911

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА РЕКОМБИНАНТНОЙ  
ТЕРМОФИЛЬНОЙ РИБОКИНАЗЫ *Thermus species* 2.9  
В КОМПЛЕКСЕ С АДЕНОЗИНДИФОСФАТОМ

© 2021 г. В. И. Тимофеев<sup>1,2</sup>, Ю. А. Абрамчик<sup>3</sup>, Т. И. Муравьева<sup>3</sup>, Н. Е. Жухлистова<sup>1</sup>,  
Р. С. Есипов<sup>3</sup>, И. П. Куранова<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup> Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup> Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва, Россия

<sup>3</sup> Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

\*E-mail: inna@crys.ras.ru

Поступила в редакцию 08.09.2020 г.

После доработки 22.09.2020 г.

Принята к публикации 24.09.2020 г.

Пространственная структура рекомбинантной термофильной рибокиназы *Thermus species* 2.9 установлена при разрешении 2.4 Å с использованием кристаллов, выращенных в невесомости методом встречной диффузии, и дифракционного набора, полученного на источнике синхротронного излучения SPring-8 (Япония). В активном центре фермента локализована молекула аденозиндифосфата и описано ее окружение. Показано, что пространственная структура рибокиназы *Thermus species* 2.9 весьма сходна со структурами других представителей ферментов этого семейства.

DOI: 10.31857/S0023476121050209

ВВЕДЕНИЕ

Рибокиназа из термофильного штамма бактерий *Thermus species* 2.9 (*Th. sp.* 2.9) относится к семейству углеводных рибокиназ (ЕС 2.7.1.15). Белки этого семейства катализируют фосфорилирование рибозы посредством переноса  $\gamma$ -фосфата аденозинтрифосфата (АТФ) на 5'-гидроксиметильную группу сахара [1, 2]. Реакция протекает в присутствии АТФ и ионов магния [3, 4]. D-рибоза является широко распространенным углеводом, вовлечена в производство энергии, является компонентом РНК и ДНК, входит в состав кофакторов многих ферментов. Через внешнюю клеточную мембрану рибоза диффундирует в периплазму, где связывается с рибозасвязывающими белками, транспортирующими ее через внутреннюю мембрану [5]. Катализируемое рибокиназой фосфорилирование 5'-гидроксиметильной группы является первой ступенью, вовлекающей рибозу в дальнейшие метаболические превращения [6–8]. Продукт реакции D-рибоза–5-фосфат используется для синтеза нуклеотидов, триптофана и гистидина или вовлекается в пентозафосфатный путь. Рибоза-5-фосфат инкорпорируется в АТФ или другие высокоэнергетические соединения. Фосфорибозилпирофосфатсинтетаза катализирует превращение рибоза-5-фосфата в 5-фосфорибозил-1-пирофосфат (5-PRPP), кото-

рый вовлечен в биосинтетические реакции, приводящие к биосинтезу пуриновых и пиримидиновых оснований, кофакторов ферментов и аминокислот гистидина и триптофана [9, 10]. Рибокиназа участвует также в биохимических процессах, обеспечивающих повторное использование освобождающейся при расщеплении нуклеотидов рибозы [11].

Интерес к структуре и свойствам рибокиназ возрос в связи с применением этих белков в каскадной стратегии энзиматического синтеза биологически активных производных нуклеозидов, который протекает при последовательном действии рекомбинантной рибокиназы, фосфопентамутаза, нуклеозидфосфорилазы [12–16]. Многие производные нуклеозидов, модифицированные по гетероциклическому основанию и углеводной группе, являются важными терапевтическими препаратами против вирусных инфекций и злокачественных опухолей [17, 18]. Широкое использование каскадной стратегии ограничено высокой субстратной специфичностью используемых ферментов и их недостаточной стабильностью. Часть этих ограничений можно обойти, используя ферменты из термофильных организмов. Ферменты термофильных микроорганизмов менее чувствительны к структуре субстрата, активны при температуре 70–80°C и существенно повышают скорость реакции, увеличивая раствори-

**Таблица 1.** Статистические характеристики экспериментального набора рентгеновских данных и результаты уточнения структуры рибокиназы *Th. sp. 2.9*

Обработка набора	
Пространственная группа	$P2_1$
$a, b, c, \text{Å}$	44.2, 155.6, 83.0
$\beta$ , град	98.2
Разрешение, Å	30.0–2.40 (2.53–2.40)*
Количество независимых рефлексов	41928
Полнота набора, %	96.9 (97.7)
$I/\sigma(I)$	5.29 (4.47)
$R_{\text{mrgd-F}}$ , %	7.7 (14.0)
Уточнение	
PDB_ID	6ZNX
Разрешение, Å	30.00–2.40 (2.46–2.40)
Количество рефлексов	39758
$R_{\text{crist}}$ , %	23.0
$R_{\text{free}}$ , %	27.1
Количество атомов	8553
$B$ -фактор, Å <sup>2</sup>	
Средний	36.21
RMS	
По длинам связей, Å	0.007
По углам, град	1.635
Карта Рамачандрана	
Наиболее благоприятные области	97.1%
Допустимые области	2.9%
Запрещенные области	0.0%

\* В скобках приведены значения для последнего слоя.

мость гетероциклических субстратов [19–21]. В [22] было показано, что рекомбинантная рибокиназа из термофильного штамма *Th. sp. 2.9* как катализатор первой ступени реакции каскадного синтеза имеет ряд преимуществ. Фермент имеет максимум активности при 85°C, углеводным субстратом данной рибокиназы кроме D-рибозы может служить 2-дезоксид-рибоза. Знание пространственной структуры дает возможность рационального конструирования новых мутантных форм фермента с более широкой селективностью, наиболее удобных для биотехнологического применения. В настоящей работе при разрешении 2.4 Å установлена пространственная структура рекомбинантной термофильной рибокиназы *Th. sp. 2.9* в комплексе с аденозиндифосфатом (АДФ). Структура решена с использованием дифракционного набора, полученного на синхротроне SPring-8 (Япония) для кристаллов, выра-

щенных в невесомости методом встречной диффузии. Показано, что по типу укладки полипептидной цепи фермент сходен с другими белками семейства рибокиназ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

*Кристаллизация и сбор дифракционных данных.* Для кристаллизации использовали препарат рекомбинантной рибокиназы, полученной и очищенной по методике [21]. Кристаллы были выращены в невесомости методом встречной диффузии из растворов белка с концентрацией 11.7 мг/мл в 0.25 М Трис-буфере, pH 8.0, содержащем 50 мМ KCl, 1 мМ АТФ, 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 5% глицерина, 0.04% NaN<sub>3</sub> [23]. Концентрация сульфата аммония в осадителе (Na-цитратный буфер, pH 5.5, содержащий 45 мМ KCl, 0.1 М Na-цитрата, pH 5.5, 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 5 мМ АТФ, 0.04% NaN<sub>3</sub>) была увеличена до 15.5% в отличие от концентрации, используемой в [23].

Дифракционный набор для кристалла, предварительно замороженного в токе жидкого азота, собран при 100 К на станции BL41XU синхротрона SPring-8 (Япония), оснащенной детектором EIGER. Для сбора данных использовали метод вращения, длина волны составляла 0.8 Å, угол вращения 360°, угол качания 0.1°, расстояние кристалл–детектор 400 мм. Набор был обработан с использованием программы iMosflm [24]. Кристаллы фермента описываются пр. гр.  $P2_1$ , содержат четыре молекулы в независимой части ячейки,  $a = 44.210$ ,  $b = 155.550$ ,  $c = 83.040$  Å,  $\beta = 98.20^\circ$ . Статистика набора представлена в табл. 1.

*Решение и уточнение структуры.* Структура рибокиназы *Th. sp. 2.9* в комплексе с АДФ определена методом молекулярного замещения с помощью программы BALBES [25]. В качестве стартовой модели использованы координаты рибокиназы *Vibrio cholerae* O395 в комплексе с рибозой, АДФ и ионом натрия (PDB\_ID: 4XDA) [26].

Уточнение структуры проведено по программе REFMAC [27]. Ручную правку модели осуществляли с помощью программы Coot [28], используя карты электронной плотности, рассчитанные с коэффициентами  $2|F_o| - |F_c|$  и  $|F_o| - |F_c|$ . Также с помощью программы Coot с использованием карт электронной плотности были локализованы молекулы воды и АДФ. Молекула АДФ, вписанная в карту электронной плотности, приведена на рис. 1.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Кристаллы для определения пространственной структуры рекомбинантной рибокиназы из термофильного штамма бактерий *Th. sp. 2.9* были выращены в невесомости методом встречной диффузии по технологии [29] из растворов белка,



Рис. 1. Электронная плотность молекулы АДФ, рассчитанная с коэффициентами  $|F_o| - |F_c|$  при  $2\sigma$ .

содержащих ионы магния и АТФ после оптимизации концентрации осадителя в условиях [23]. В результате разрешение дифракционного набора выращенных кристаллов было повышено с 2.87 до 2.4 Å.

Пространственная структура рибозиназы *Th. sp. 2.9* решена методом молекулярного замещения с использованием в качестве стартовой модели координат рибозиназы *Vibrio cholerae* (PDB\_ID: 4XDA) и уточнена при разрешении 2.4 Å. Статистические параметры набора и результаты уточнения приведены в табл. 1. Кристаллы фермента (пр. гр.  $P2_1$ ) содержат четыре молекулы белка (A, B, C, D) в независимой части элементарной ячейки (рис. 2). В каждой молекуле фермента локализована связанная в активном центре молекула АДФ с заселенностью, близкой к единице.

При совмещении по C $\alpha$ -атомам четырех молекул фермента, расположенных в независимой части ячейки, величина среднеквадратичного отклонения между парами молекул A–B, A–C, A–D равна соответственно 0.587, 0.760 и 0.570 Å. Значительные отклонения заметны на участках, соединяющих большой и малый домены, в сегментах, соединяющих стрэнды малого домена, и в петле, соединяющей спирали  $\alpha_5$  и  $\alpha_6$ .

Укладка полипептидной цепи в молекуле рибозиназы *Th. sp. 2.9*. Пространственные структуры известны для ряда белков семейства рибозиназ, в том числе рибозиназы человека и ряда микробных рибозиназ: из *E. coli*, *Vibrio cholera* O395, *Leishmania donovani*, *Thermotoga maritima* [26, 30,

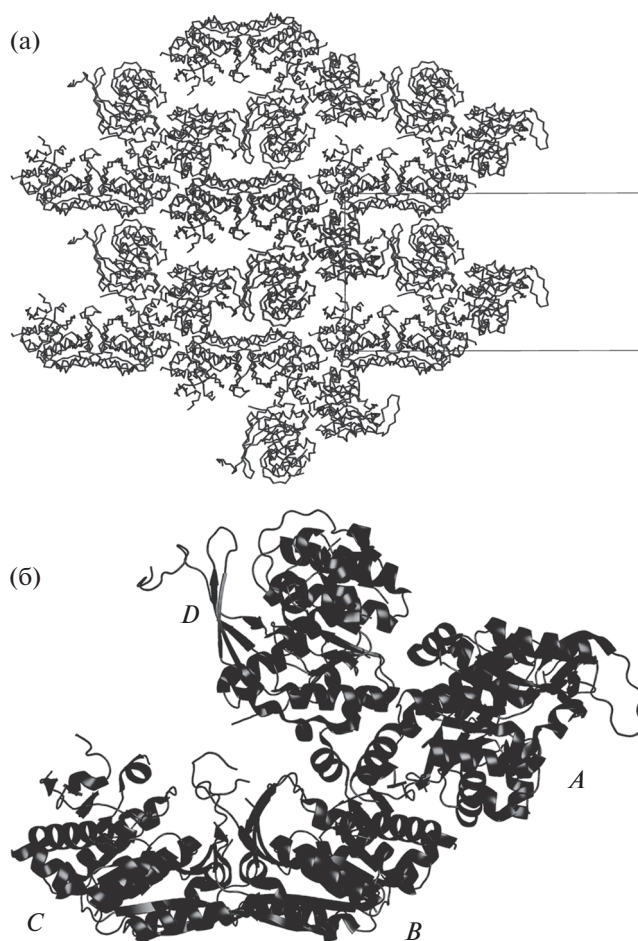


Рис. 2. Укладка мономеров в решетке кристаллов комплекса рибозиназы *Th. sp. 2.9* с АДФ (а); независимая часть элементарной ячейки кристаллов комплекса рибозиназы *Th. sp. 2.9* с АДФ – четыре мономера белка A, B, C, D (б).

31]. Показано, что, хотя идентичность аминокислотных последовательностей между белками этого семейства менее 30%, рибозиназы сходны типом укладки полипептидной цепи, имеют два общих мотива в аминокислотной последовательности, а субъединица фермента состоит из двух доменов. Еще одной чертой, общей для большинства рибозиназ с известной структурой, является димерное строение биологически активной формы фермента.

Типичная для рибозиназ укладка полипептидной цепи обнаружена и в молекуле термофильной рибозиназы *Th. sp. 2.9*. Полипептидная цепь молекулы рибозиназы *Th. sp. 2.9*, содержащая 301 аминокислотный остаток (а.о.), включает в себя 13  $\beta$ -стрэндов, 10  $\alpha$ -спиралей и 3  $\eta$ -спирали ( $\eta$ -спирали  $3_{10}$ ). Как и во всех белках семейства рибозиназ, молекула состоит из двух доменов: большого каталитического глобулярного  $\alpha/\beta$ -домена и выступающего из него малого  $\beta$ -домена,



**Рис. 3.** Укладка полипептидной цепи в мономере комплекса рибкиназы *Th. sp. 2.9* с АДФ. Элементы вторичной структуры обозначены стрелками ( $\beta$ -стрэнды) и спиралями:  $\alpha$  и  $3_{10}$  ( $\eta$ ) – спирали.

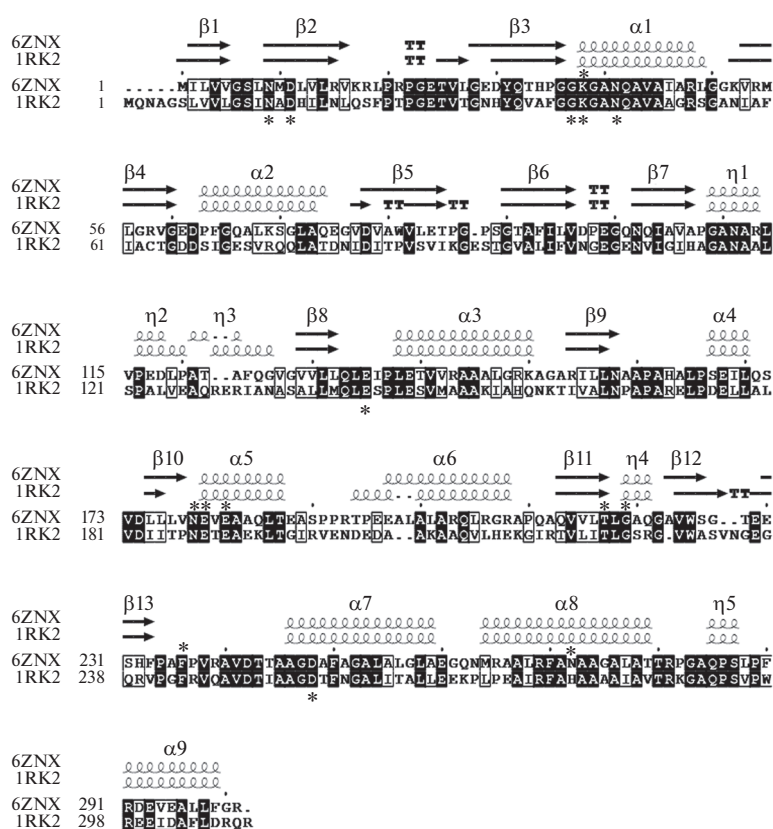
который представляет собой изогнутый четырех-стрэндный  $\beta$ -слой (рис. 3). Малый  $\beta$ -домен образован двумя вставками в центральную  $\alpha/\beta$ -укладку. Каждая из вставок состоит из пары антипараллельных  $\beta$ -стрэндов  $\beta 2$ – $\beta 3$  (а.о. 8–36) и стрэндов  $\beta 6$ – $\beta 7$  (а.о. 90–108). Большой домен состоит из центрального  $\beta$ -слоя, образованного девятью  $\beta$ -стрэндами, которые с обеих сторон окружены  $\alpha$ -спиралями. Первые шесть параллельных  $\beta$ -стрэндов домена вместе с примыкающими  $\alpha$ -спиралями имеют топологию классического NAD-связывающего домена Россмана [32], характерную для белков, связывающих нуклеотиды. Однако в рибкиназе к этому слою примыкают еще три стрэнда, соединенные друг с другом короткими поворотами. Три С-концевые  $\beta$ -стрэнда, продолжающие центральный слой ( $\beta 11$ – $\beta 13$ ), антипараллельны и соединены короткими поворотами типа шпильки. Обе стороны С-концевого участка большого домена закрыты  $\alpha$ -спиралями 6 и 7 с одной стороны и 8 и 9 с другой. Большой и малый домены соединены короткими неупорядоченными участками, которые дают возможность доменам двигаться друг относительно друга. На коротких переходных участках, соединяющих стрэнд  $\beta 1$  большого домена со стрэндом  $\beta 2$  малого домена или стрэнд  $\beta 3$  малого домена со спиралью  $\alpha 1$  большого домена, повышенное содержание остатков глицина и пролина, они входят в один из двух общих для всего семейства мотивов аминокислотных последовательностей [11]. Остатки глицина востребованы по стерическим и

конформационным причинам. Они увеличивают пространство для возможного изменения взаимного расположения доменов, а остатки пролина способствуют изменению направления полипептидной цепи. Повышенное содержание пролина и глицина наблюдается и в переходных между доменами участках  $\beta 7$ – $\eta 2$  и  $\beta 5$ – $\beta 6$ . Температурные факторы а.о. фрагмента 85–89, соединяющего стрэнды  $\beta 5$  и  $\beta 6$ , и фрагмента Pro108–Pro116 между стрэндом  $\beta 7$  и спиралью  $\eta 2$  выше среднего по структуре.

Для сравнения на рис. 4 представлены последовательности и распределение элементов вторичной структуры в мономерах рибкиназы *Th. sp. 2.9* и *E. coli*. Степень идентичности аминокислотных последовательностей между этими ферментами превышает 40%. При совмещении по  $\text{C}\alpha$ -атомам субъединицы А рибкиназы *Th. sp. 2.9* с субъединицей *E. coli* среднеквадратичное отклонение равно 1.445 Å. Распределение элементов вторичной структуры, а также количество а.о. в  $\alpha$ -спиралях и  $\beta$ -стрэндах практически одинаковы в обоих белках.

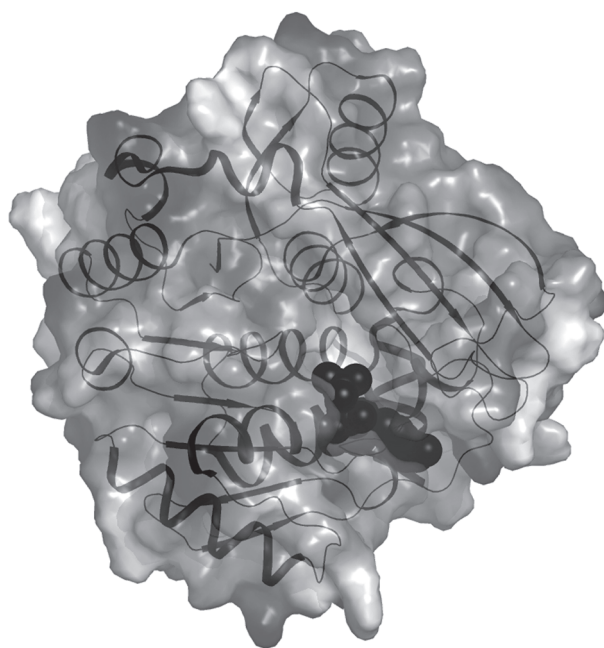
**Активный центр фермента**, включающий в себя центры связывания рибозы и АДФ, расположен на участке поверхности каталитического  $\alpha/\beta$ -домена, находящегося между большим и малым доменами (рис. 5). Известно, что катализируемая ферментом реакция протекает посредством нуклеофильной атаки атомов кислорода  $\text{O}5'$  гидроксиметильных групп рибозы  $\gamma$ -фосфата АТФ [11]. Нуклеофильные свойства кислорода гидроксиметильной группы рибозы увеличиваются благодаря водородной связи между гидроксильной группой и остатком аспарагиновой кислоты, действующей как каталитическое основание. В молекуле рибкиназы *E. coli* – это Asp255, в рибкиназе *Th. sp. 2.9* – Asp248. Атомы азота основной цепи остатков глицина, окружающие остаток аспарагиновой кислоты, участвуют в образовании анионной дыры, стабилизирующей переходное состояние реакции [11]. Сближение субстратов, необходимое для протекания реакции, – результат перехода фермента из открытого в закрытое состояние сразу после связывания рибозы [30]. Конформационные изменения, обеспечивающие этот переход, сопровождаются движением доменов. В закрытой конформации малый домен изолирует от растворителя область активного центра, в котором связана рибоза. Поэтому малому домену приписывают роль крышки, контролирующей доступ растворителя к активному центру.

О строении участка молекулы, в котором происходит связывание рибозы, можно судить, сравнивая структуру молекулы рибкиназы *Th. sp. 2.9* и структуру комплекса рибкиназы *E. coli* с рибозой и АДФ [11]. Связывание рибозы имеет место



**Рис. 4.** Сравнение аминокислотных последовательностей и вторичных структур рибокиназ *Th. sp. 2.9* и *E. coli*. Элементы вторичной структуры  $\alpha$  и  $3_{10}$  ( $\eta$ ) спирали и  $\beta$ -стрэнды обозначены спиралями и стрелками соответственно. Черным цветом выделены идентичные в обоих белках аминокислотные остатки, звездочками — аминокислотные остатки, участвующие в связывании молекул рибозы и АДФ.

на поверхности большого домена, расположенной наиболее близко к сегменту, связывающему большой и малый домены. В прямых контактах с рибозой в рибокиназе *E. coli* участвуют а.о. стрэнда  $\beta 1$  Asn14, Asp16 (Asn9, Asp11 в *Th. sp. 2.9*), Gly42 (Gly37 в *Th. sp. 2.9*), расположенные между  $\beta 3$  и  $\alpha 1$ , остатки спирали  $\alpha 1$  Lys43 и Asn46 (Lys38 и Asn41 в *Th. sp. 2.9*), расположенные между  $\alpha 8$  и  $\alpha 3$ , и Asp255 (Asp248 в *Th. sp. 2.9*) спирали  $\alpha 7$ . Почти все перечисленные а.о. относятся к  $\alpha/\beta$ -домену и взаимодействуют с полярной стороной рибозного кольца. Гидрофобная поверхность сахарного кольца взаимодействует в основном с алифатическими боковыми цепями внутренней стороны малого домена. Отметим, что в рибокиназе рибоза связана с областью большого домена, который имеет топологию Россмана, и в большинстве белков связываются нуклеотиды. Все взаимодействующие с рибозой а.о. инвариантны не только в структурах рибокиназ из *E. coli* и *Th. sp. 2.9*, но и входят в один из аминокислотных мотивов, характеризующих семейство рибокиназ [11, 30]. Хотя некоторые рибокиназы, в том числе рибокиназы *Th. sp. 2.9* и *E. coli*, могут использовать дезоксирибозу как



**Рис. 5.** Молекула АДФ в активном центре субъединицы рибокиназы *Th. sp. 2.9*.

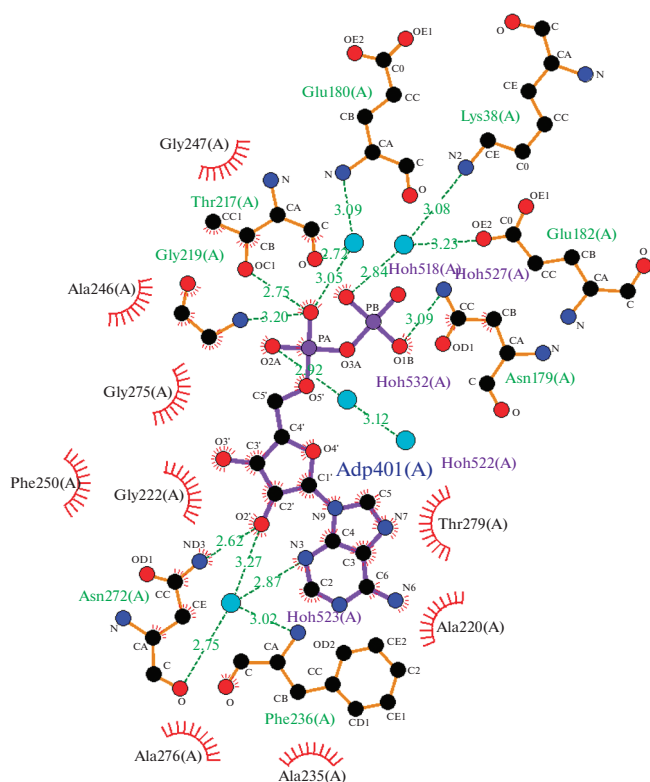


Рис. 6. Ближайшее окружение молекулы АДФ в активном центре рибокиназы *Th. sp. 2.9* с АДФ.

субстрат [33], в рибокиназе *E. coli* это приводит к потере трех водородных связей с а.о. Asn14, Asp16, Gly42 (Asn9, Asp11, Gly37 в *Th. sp. 2.9* соответственно), что объясняет предпочтительность рибозы как субстрата. В рибокиназе из *E. coli* связанная рибоза почти полностью закрыта малым доменом, который действует как крышка над центром связывания, а также второй субъединицей димера.

Молекула АДФ, локализованная в молекуле рибокиназы *Th. sp. 2.9*, образовалась в результате гидролиза АТФ, присутствующего в кристаллизационном растворе, и занимает в активном центре положение, схожее с положением молекулы АДФ в субъединице рибокиназы *E. coli*. Молекула АДФ локализована в полости между двумя доменами, но непосредственно связана только с а.о., находящимися на поверхности  $\alpha/\beta$ -домена (рис. 5). По сравнению с рибозасвязывающим центром АДФ-связывающий участок находится на большем расстоянии от переходного участка между двумя доменами сегмента. Поэтому при переходе к закрытой конформации фермента молекула АДФ не накрывается полностью малым доменом и остается доступной для растворителя. В связывании молекулы АДФ участвуют а.о. нескольких фрагментов вторичной структуры: пяти спиралей ( $\alpha 1, \alpha 5, \alpha 7, \alpha 8, \alpha 9$ ) и двух стрэндов ( $\beta 12$  и  $\beta 13$ ). Осно-

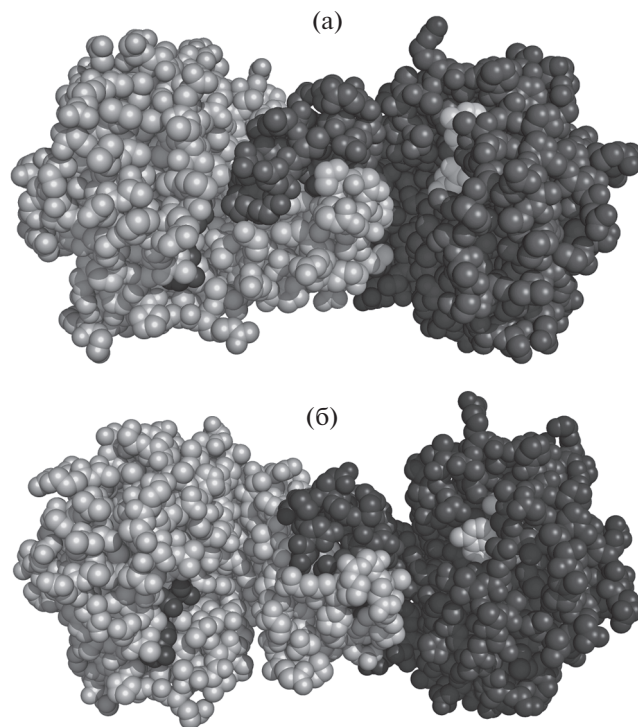


Рис. 7. Молекулы рибокиназы, построенные из мономеров *D, A* (а) и *B, C* (б). В активных центрах мономеров показаны молекулы АДФ.

вание аденина локализовано в петле, соединяющей стрэнд  $\beta 13$  со спиралью  $\alpha 7$  (а.о. 235–245) (рис. 5). Оксигруппы рибозного фрагмента расположены по одну сторону рибозного кольца. Оксигруппа при втором атоме углерода образует прямую водородную связь с атомом OD2\_Asp272 спирали  $\alpha 8$ , а через молекулу воды — с азотом основной цепи Phe236 стрэнда  $\beta 13$ . Вторая гидроксильная группа рибозы связана с атомом кислорода основной цепи Gly222 стрэнда  $\beta 12$ . Фосфатные группы молекулы АДФ направлены в сторону центра связывания рибозы. Атомы кислорода  $\alpha$ -фосфатной группы связаны непосредственно с атомом азота основной цепи Gly219 и OG1\_Thr217 (стрэнд  $\beta 11$ ), а через молекулу  $H_2O$  — с атомом азота основной цепи Glu180 спирали  $\alpha 5$ . Один из атомов кислорода  $\beta$ -фосфата связан с атомом азота амидогруппы Asn79, который находится между стрэндом  $\beta 10$  и спиралью  $\alpha 5$ , а через молекулу воды — с OE2\_Glu182 ( $\alpha 5$ ) и Ne\_Lys38 ( $\alpha 1$ ) (рис. 6). Почти все а.о., непосредственно участвующие в связывании АДФ в рибокиназах *Th. sp. 2.9* и *E. coli*, инвариантны в обоих белках. Имеется только одна замена. Со второй оксигруппой рибозного кольца в рибокиназе *Th. sp. 2.9* связан остаток Asp272, а в рибокиназе *E. coli* соответствующую позицию занимает His279.

*Особенности пространственной структуры рибокиназы Th. sp. 2.9.* Несмотря на значительное

сходство пространственных структур рибоскиназы *Th. sp. 2.9* и *E. coli*, оба фермента различаются четвертичной структурой. Фермент из *E. coli*, как и большинство рибоскиназ с известной пространственной структурой, функционирует как димер, в котором субъединицы связаны посредством взаимодействия малых доменов – их  $\beta$ -стрэнды образуют связь, называемую  $\beta$ -claspstructure [34]. В кристаллах рибоскиназы *E. coli* (пр. гр.  $P6_122$ ) в независимой части элементарной ячейки содержится один мономер, а димер, являющийся функционально активной формой фермента, образуется при действии оси второго порядка. Граница раздела между молекулами димера формируется вследствие взаимодействий между  $\beta$ -слоями малых доменов. Упакованные почти перпендикулярно друг другу, они образуют сплюснутый баррель. Такая структура была названа  $\beta$ -claspstructure [34]. Непосредственно в катализе обе субъединицы димера функционируют независимо, однако при переходе фермента в закрытое состояние вторая субъединица димера закрывает часть активного центра, где связывается рибоза, что обеспечивает надежную изоляцию активного центра от растворителя во время реакции. Анализ расположения молекул в независимой части элементарной ячейки рибоскиназы *Th. sp. 2.9* показывает, что связь между протомерами через малые домены отсутствует. Однако анализ кристаллической упаковки, проведенный с использованием сервиса PISA [35], показывает, что димер может быть образован путем объединения субъединиц *A* и *D* после применения оператора  $-x, y - 1/2, -z + 1$  или путем объединения субъединиц *B* и *C* после применения оператора  $x - 1, y, z$ . Данные димеры структурно аналогичны (рис. 7), площади контактирующих поверхностей, как и энергия формирования комплекса, согласно сервису PISA близки ( $3810 \text{ \AA}^2$  и  $-28.9$  ккал/моль и  $3410 \text{ \AA}^2$  и  $-29.9$  ккал/моль соответственно), однако количество водородных связей различается (табл. 2). Четыре молекулы рибоскиназы *Th. sp. 2.9*, расположенные в независимой части элементарной ячейки, несколько различаются взаимным расположением большого и малого доменов. В молекулах *A, B, C, D* расстояние между  $\alpha$ -атомами а.о. Gly100 малого домена и Val241 большого домена равно 7.42, 12.33, 18.1 и 5.71  $\text{ \AA}$  соответственно. Оба а.о. расположены на противоположных участках полипептидной цепи, ограничивающей активный центр, и могут характеризовать степень его открытости. Большая подвижность а.о. малого домена в рибоскиназе *Th. sp. 2.9* может вносить вклад в различия кинетических параметров между рибоскиназами *Th. sp. 2.9* и *E. coli*, как это показано в [22].

Работа выполнена при поддержке ОКР “МКС (Наука)” в рамках Федеральной космической программы 2016–2025 в части решения и уточне-

**Таблица 2.** Контакты между мономерами *D* и *A*, связанными оператором симметрии  $-x, y - 1/2, -z + 1$ , и мономерами *B* и *C*, связанными оператором симметрии  $x - 1, y, z$

Мономер <i>D</i> ( $x, y, z$ )	Мономер <i>A</i> ( $-x, y - 1/2, -z + 1$ )	Расстояние, $\text{ \AA}$
N_GLU24	OE1_GLN103	3.19
OH_TYR31	O_VAL106	2.72
N_ILE104	O_GLU24	3.24
N_VAL106	O_VAL26	3.04
O_ARG18	N_VAL106	3.44
O_PRO20	N_ILE104	3.28
OH_TYR31	N_ALA107	3.71
OH_TYR31	N_VAL106	3.70
O_ASN102	N_GLY23	2.57
OE1_GLN103	NE2_GLN103	2.71
O_ILE104	N_VAL26	3.11
O_VAL106	N_GLY28	2.68
Мономер <i>B</i> ( $x, y, z$ )	Мономер <i>C</i> ( $x - 1, y, z$ )	Расстояние, $\text{ \AA}$
N_VAL26	O_ILE104	3.36
N_GLY28	O_VAL106	3.05
OE1_GLN103	NE2_GLN103	2.83
O_GLU24	N_ILE104	3.68

ния структуры белка, а также Министерства науки и высшего образования РФ в рамках Государственного задания ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН в части анализа пространственной структуры.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mathews I., Erion M.D., Ealick S.E. // Biochemistry. 1998. V. 37. P. 15607. <https://doi.org/10.1021/bi9815445>
2. Schumacher M.A., Scott D.M., Mathews I.I. et al. // J. Mol. Biol. 2000. V. 296. P. 549. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1999.3474>
3. Schimmel S.D., Hoffee P., Horecker B.L. // Arch. Biochem. Biophys. 1974. V. 164. P. 560. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(74\)90067-8](https://doi.org/10.1016/0003-9861(74)90067-8)
4. Andersson C., Mowbray S. // J. Mol. Biol. 2002. V. 315. P. 409. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.5248>
5. Furlong C.E. // Methods Enzymol. 1982. V. 90. P. 467. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(82\)90173-2](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(82)90173-2)
6. Park J., Gupta R.S. // Cell. Mol. Life Sci. 2008. № 65. P. 2875. <https://doi.org/10.1007/s00018-008-8123-1>
7. Anderson A., Cooper R.A. // Biochim. Biophys. Acta. 1969. V. 177. P. 163. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(69\)90081-6](https://doi.org/10.1016/0304-4165(69)90081-6)

8. *Lopilato J.E., Garwin J.L., Emr S.D. et al.* // J. Bacteriol. 1984. V. 158 P. 665.  
<https://doi.org/10.1128/JB.158.2.665-673.1984>
9. *Switzer R.L.* // J. Biol. Chem. 1969. V. 244. P. 2854.
10. *Becker M.A., Raivio K.O., Bakay B. et al.* // J. Clin. Invest. 1980. V. 65. P. 109.  
<https://doi.org/10.1172/JCI109640>
11. *Sigrell J.A., Cameron A.D., Jones T.A., Mowbray S.L.* // Structure. 1998. V. 6. P. 183.  
[https://doi.org/10.1016/s0969-2126\(98\)00020-3](https://doi.org/10.1016/s0969-2126(98)00020-3)
12. *Chuvikovskiy D.V., Esipov R.S., Skoblov Y.S. et al.* // Bioorg. Med. Chem. 2006. V. 14. P. 6327.  
<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2006.05.057>
13. *Miroshnikov A.I., Esipov R.S., Muravyova T.I. et al.* // Open Conf. Proc. J. 2010. V. 1. P. 98.
14. *Fateev I.V., Antonov K.V., Konstantinova I.D. et al.* // Beilstein J. Org. Chem. 2014. V. 10. P. 1657.  
<https://doi.org/10.3762/bjoc.10.173>
15. *Stepchenko V.A., Seela F., Esipov R.S. et al.* // Synth. Lett. 2012. V. 23(10). P. 1541.  
<https://doi.org/10.1055/s-0031-129067916>
16. *Konstantinova I.D., Antonov K.V., Fateev I.V. et al.* // Synthesis. 2011. V. 10. P. 1555.  
<https://doi.org/10.1055/s-0030-1260010>
17. *Mikhailopulo I.A., Miroshnikov A.I.* // Biotechnol. Acta. 2013. V. 6. P. 3.
18. *Mikhailopulo I.A., Miroshnikov A.I.* // Acta Naturae. 2010. V. 2. P. 6.  
<https://doi.org/10.32607/20758251-2010-2-2-36-58>
19. *Zhou X., Mikhailopulo I.A., Cruz-Bournazou N., Neubauer P.* // J. Mol. Catalysis B: Enzymatic. 2015. V. 115. P. 119.  
<https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2015.02.009>
20. *Zhou X., Szeker K., Jiao L.-Y. et al.* // Adv. Synthesis Catalysis. 2015. V. 357. № 6. P. 1237.  
<https://doi.org/10.1002/adsc.201400966>
21. *Esipov R.S., Abramchik Yu.A., Fateev I.V. et al.* // Acta Naturae. 2016. V. 8. № 3 (30). P. 160.
22. *Esipov R.S., Abramchik Yu.A., Fateev I.V. et al.* // Biofarm. Z. 2016. V. 8(2). P. 3.
23. *Абрамчик Ю.А., Тимофеев В.И., Муравьева Т.И. и др.* // Кристаллография. 2016. Т. 61. № 6. С. 940.  
<https://doi.org/10.7868/S0023476116060023>
24. *Battye T.G., Kontogiannis L., Johnson O. et al.* // Acta Cryst. D. 2011. V. 67. № 4. P. 271. <https://doi.org/https://doi.org/10.1107/S0907444910048675>
25. *Long F., Vagin A.A., Young P., Murshudov G.N.* // Acta Cryst. D. 2008. V. 64. № 1. P. 125.  
<https://doi.org/10.1107/S0907444907050172>
26. *Paul R., Patra M.D., Sen U.* // Adv. Exp. Med. Biol. 2015. V. 842. P. 293.  
<https://doi.org/10.1107/S2053230X18000109>
27. *Murshudov G.N., Vagin A.A., Dodson E.J.* // Acta Cryst. D. 1997. V. 53. P. 240.  
<https://doi.org/10.1107/S0907444996012255>
28. *Emsley P., Cowtan K.* // Acta Cryst. D. 2004. V. 60. P. 2126.  
<https://doi.org/10.1107/S0907444904019158>
29. *Куранова И.П., Смирнова Е.А., Абрамчик и др.* // Кристаллография. 2011. Т. 56. № 5. С. 944.  
<https://doi.org/10.1134/S1063774511050154>
30. *Sigrell J.A., Cameron A.D., Mowbray S.L.* // J. Mol. Biol. 1999. V. 290. P. 1009.  
<https://doi.org/10.1006/jmbi.1999.2938>
31. *Gatreddi S., Vasudevan D., Qureshi I.A.* // Int. J. Biol. Macromol. 2019. V. 136. P. 253.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.001>
32. *Rossmann M.G., Moras D., Olsen K.W.* // Nature. 1974. V. 250. P. 194199.
33. *Jargiello P.* // Biochim. Biophys. Acta. 1982. V. 698. P. 78.  
[https://doi.org/10.1016/0167-4781\(82\)90187-7](https://doi.org/10.1016/0167-4781(82)90187-7)
34. *Chothia C., Janin J.* // Biochemistry. 1982. V. 21. P. 3955.  
<https://doi.org/10.1021/bi00260a009>
35. *Krissinel E., Henrick K.* // J. Mol. Biol. 2007. V. 372. P. 774.  
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.05.022>