

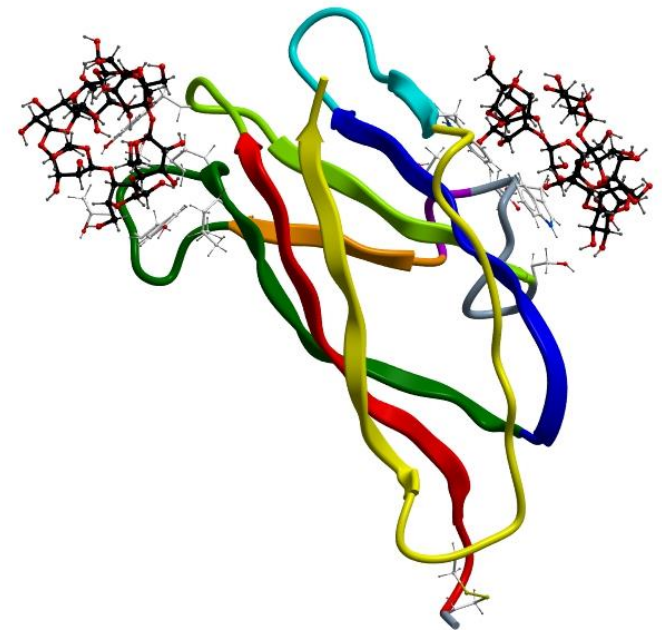
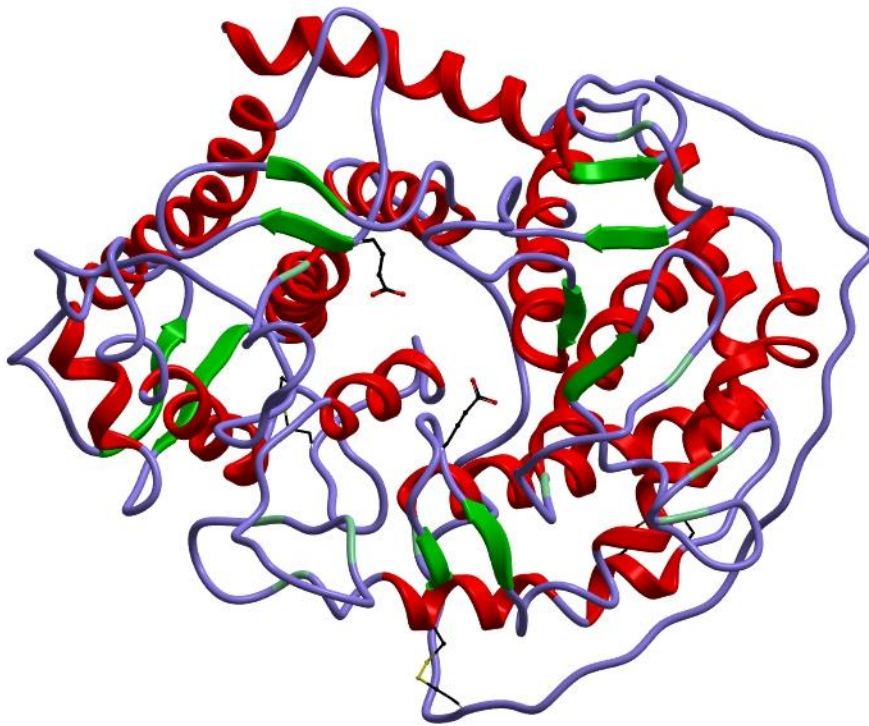
Исследование гликопротеина глюкоамилазы из гриба *Aspergillus awamori* с помощью малоуглового нейтронного рассеяния

Шмидт А.Е., Швецов А.В., Куклин А.И., Радулеску А., Лебедев Д.В.,  
Суржик М.А., Сергеев В.Р., Исаев-Иванов В.В.

ОМРБ ПИЯФ НИЦ КИ

2016

# Структура глюкоамилазы гриба *Aspergillus awamori*



*Aleshin A.E., et al. // J. Biol. Chem. 1992. V. 267. P. 19291.*  
*Sorimachi K., et al. // J. Mol. Biol. 1996. V. 259. P. 970.*

# Цели и задачи

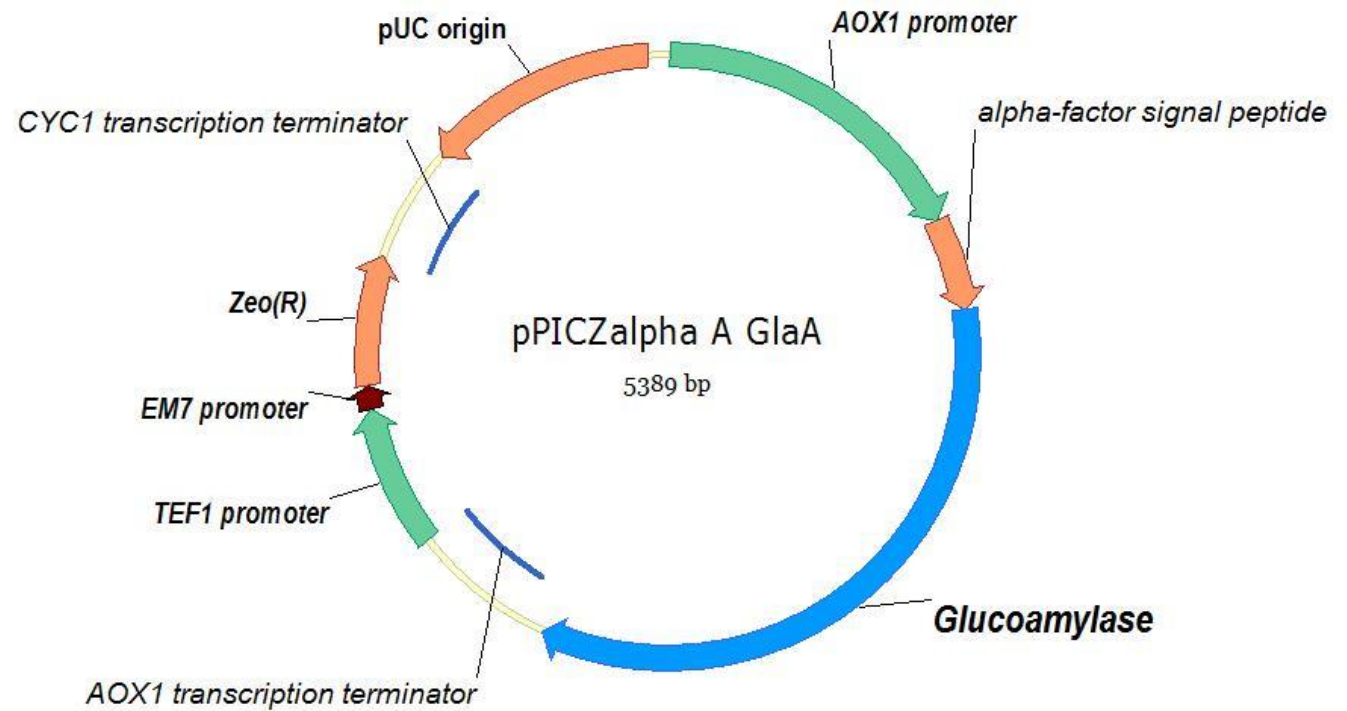
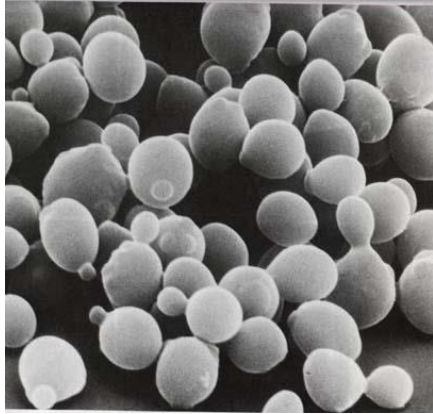
## Цель

- Построить полноатомную модель структуры рекомбинантной глюкоамилазы гриба *Aspergillus awamori*

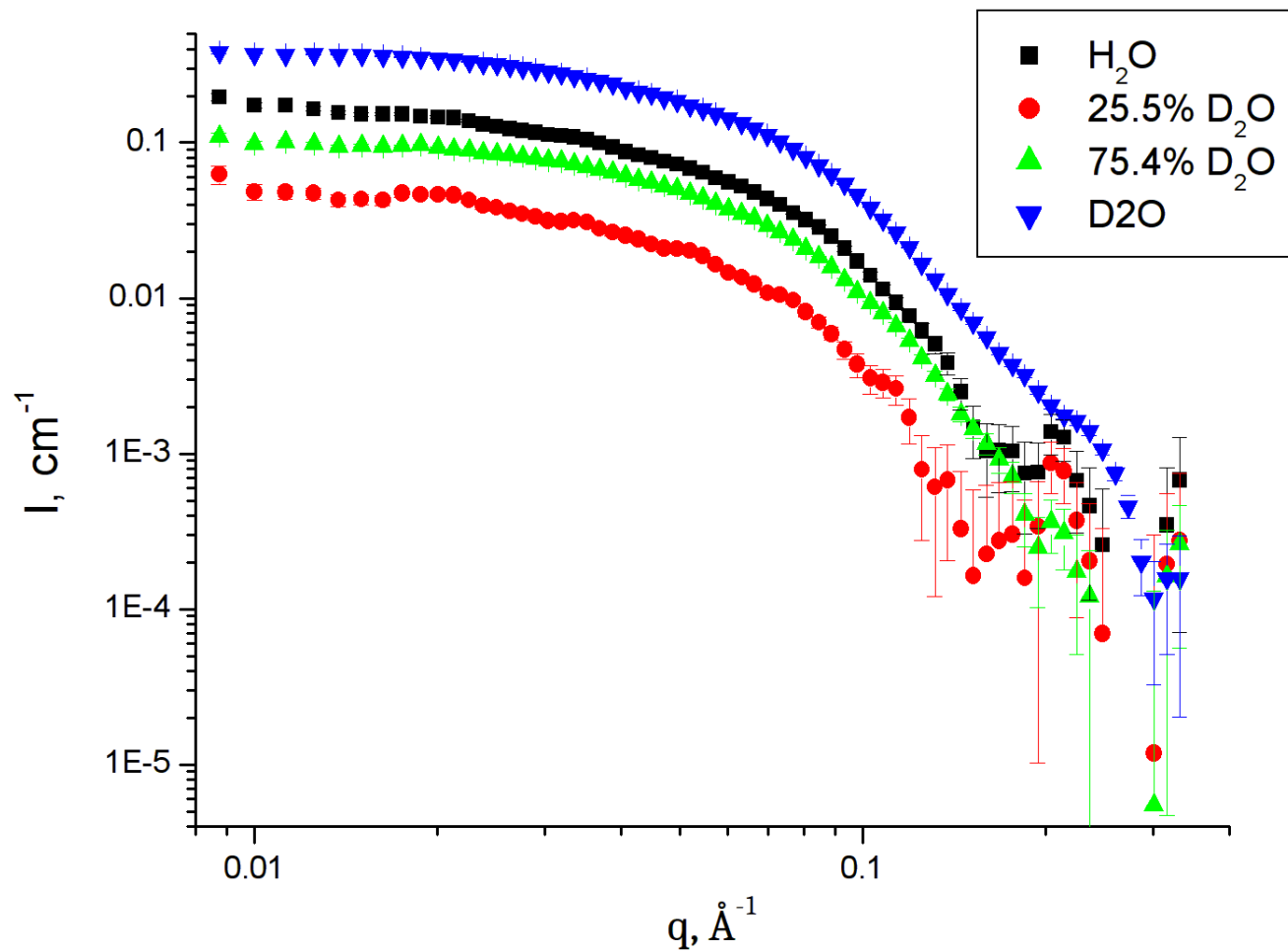
## Задачи

- Клонировать ген глюкоамилазы в дрожжи *Pichia pastoris*
- Получить очищенный активной белок с нативной аминокислотной последовательностью
- Измерить спектры малоуглового рассеяния глюкоамилазы
- Определить влияние гликозилирования на спектры малоуглового рассеяния
- На основе экспериментальных данных методами молекулярного моделирования построить модель глюкоамилазы

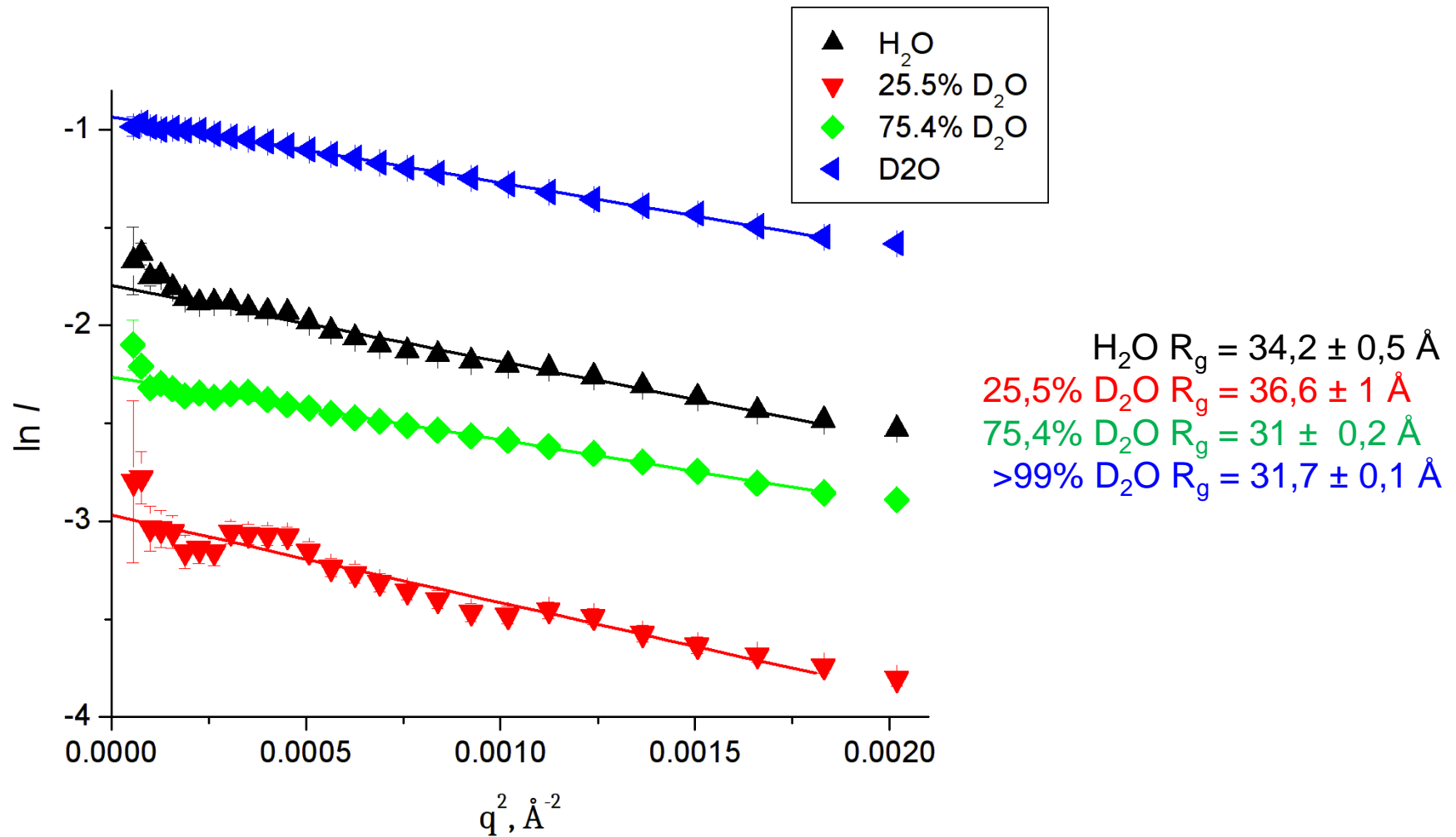
# Схема плазмиды pPICZ $\alpha$ A\_GlaA



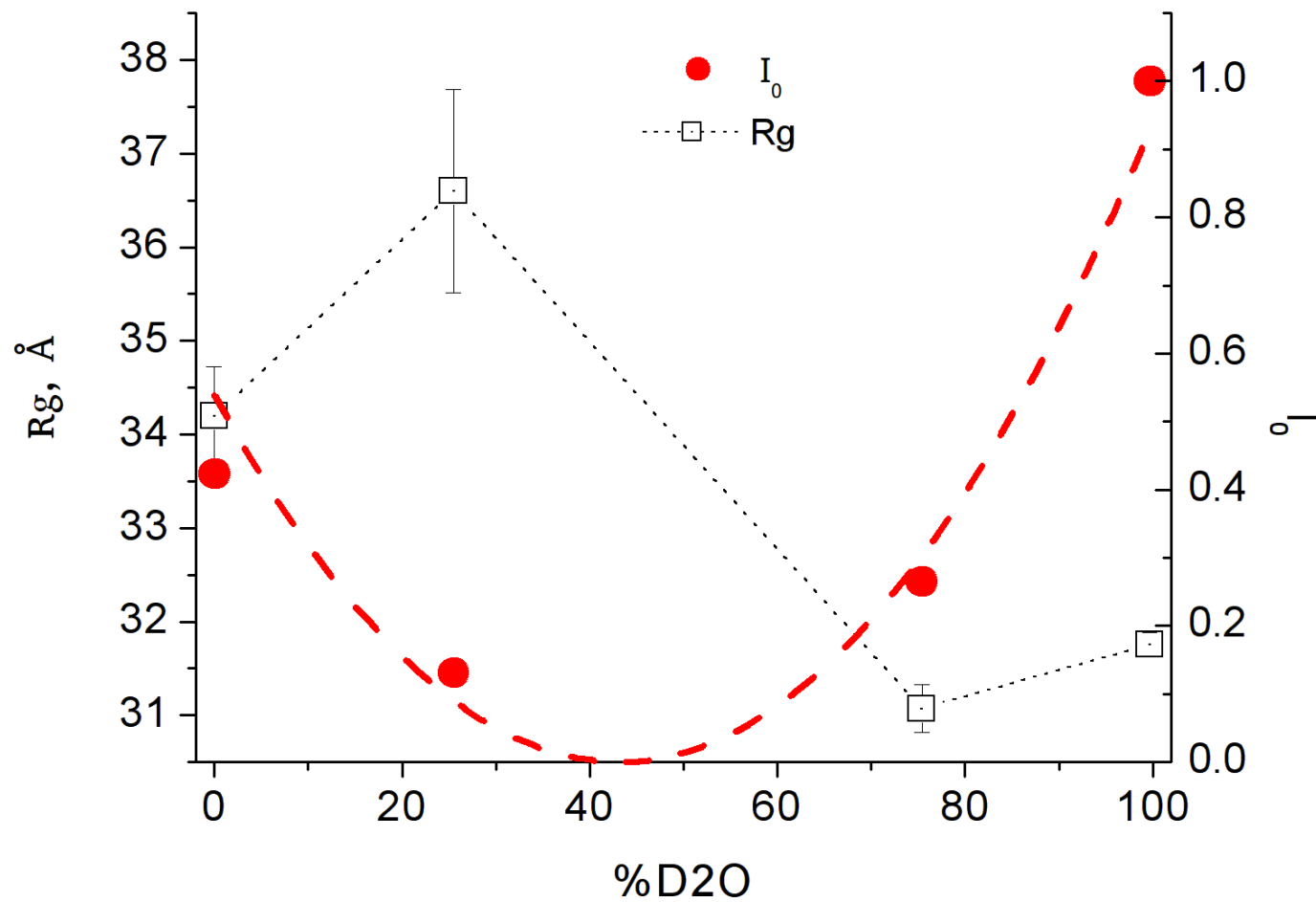
# Спектры малоуглового рассеяния нейтронов глюкоамилазы



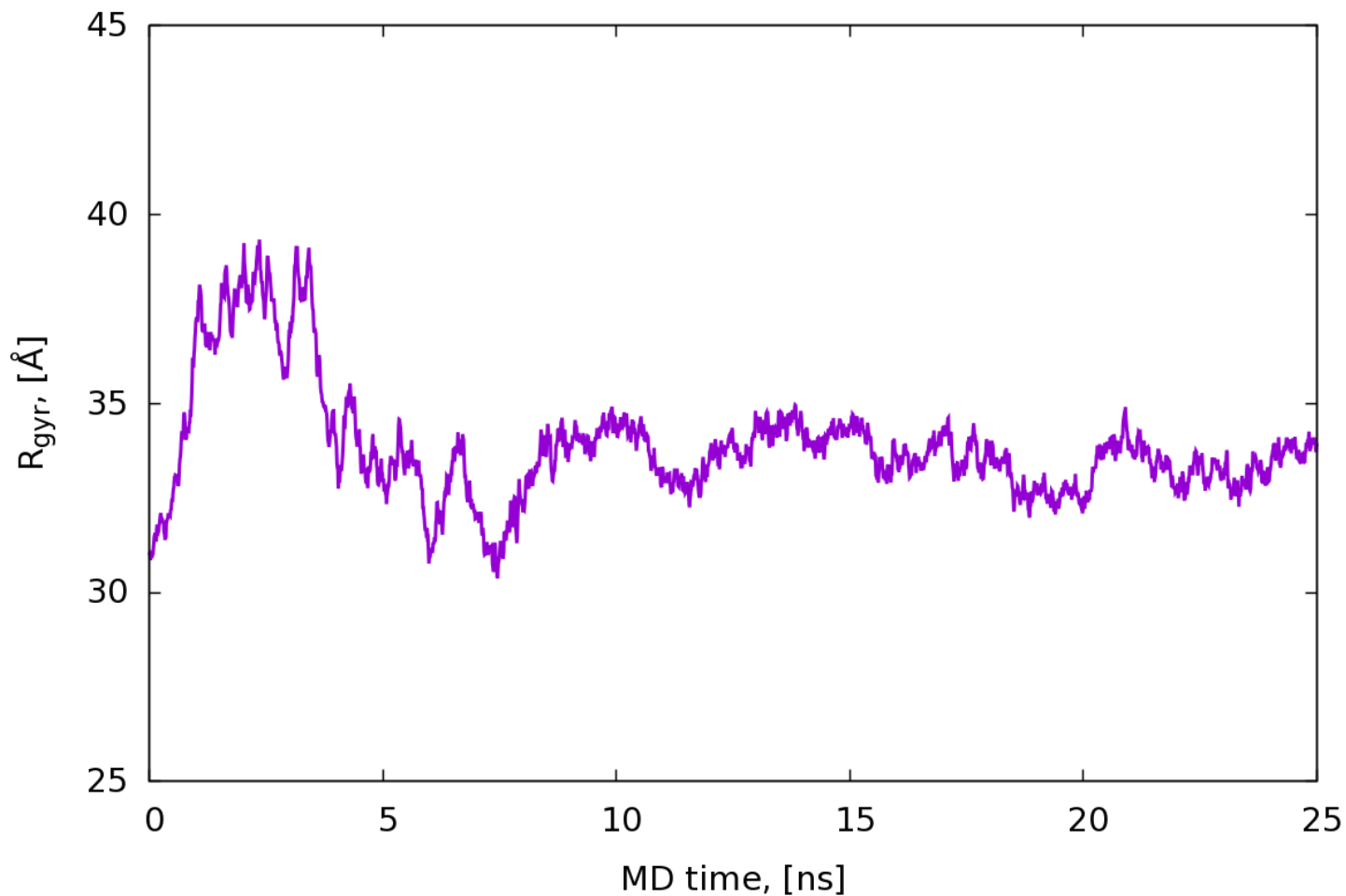
# Область Гинье спектров малоуглового рассеяния нейтронов



# Зависимость радиуса гирации и интенсивности рассеяния в нулевой угол $I_0$ от точки контраста



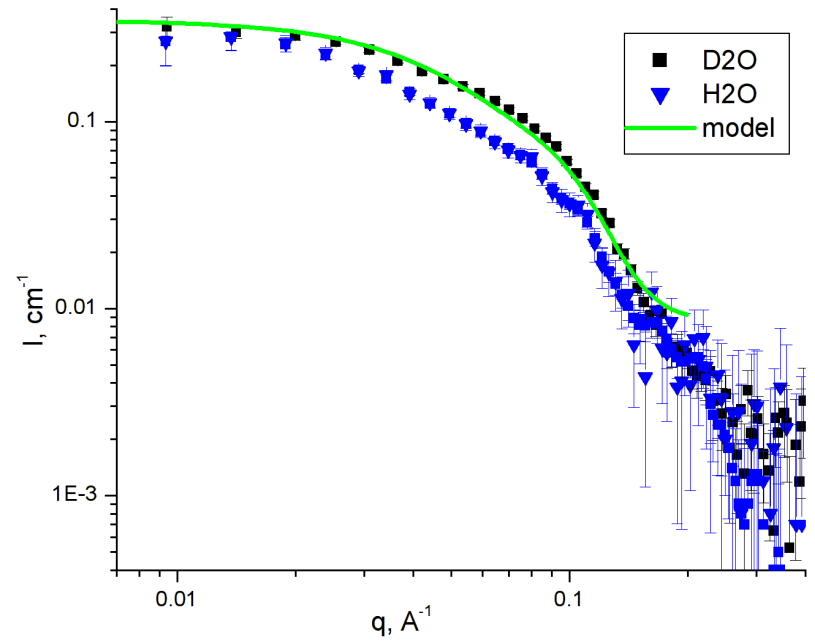
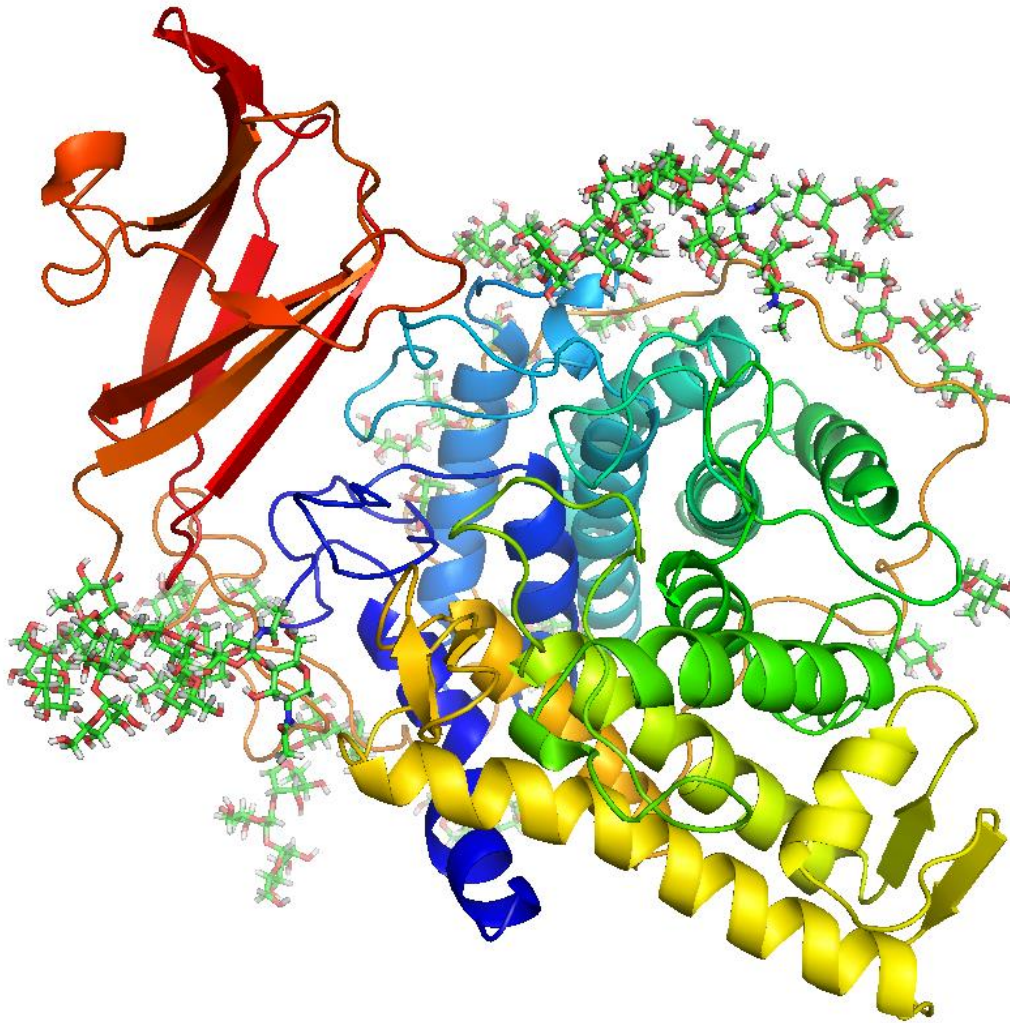
# Зависимость радиуса гирации глюкоамилазы от длины траектории молекулярной динамики



$$\langle R_g \rangle = 33.4 \pm 0.6 \text{ \AA}$$



# Модель трехмерной структуры глюкоамилазы GA1 и ее рассчитанный спектр рассеяния



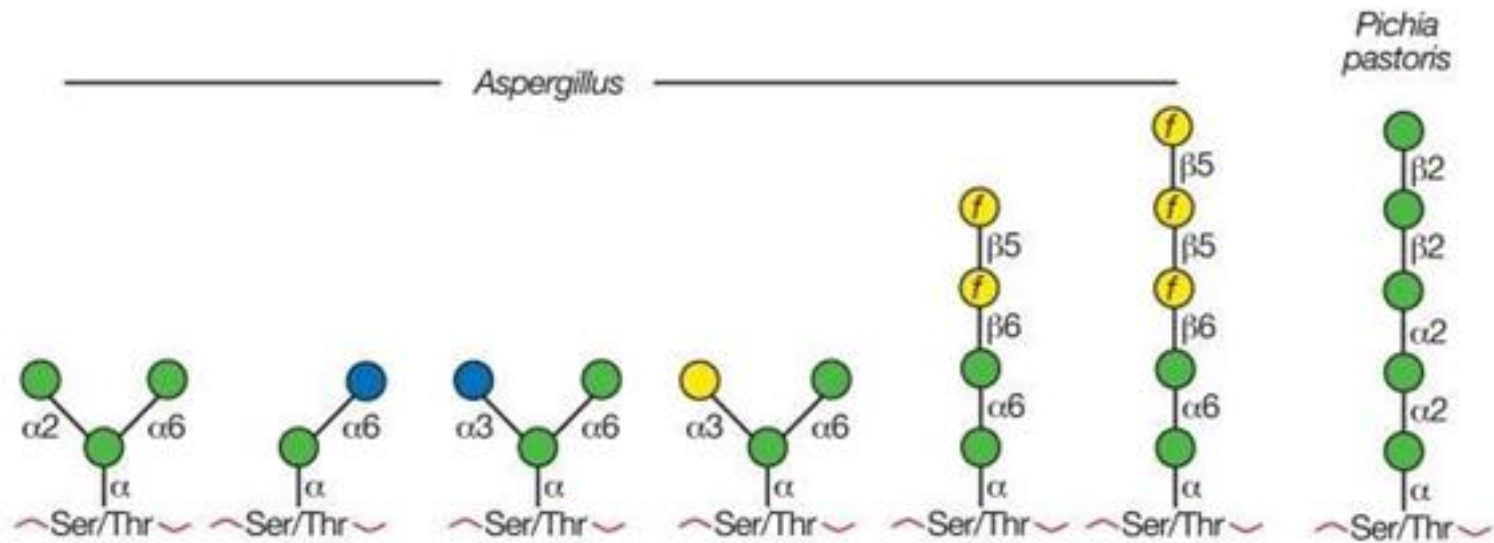
## Выводы

- Полученные данные указывают, что глюкоамилаза в растворе находится в мономерной форме и содержит гликозидную компоненту, которая вносит значительный вклад в рассеяние.
- Предварительная модель полной формы глюкоамилазы согласуется с экспериментальными данными.

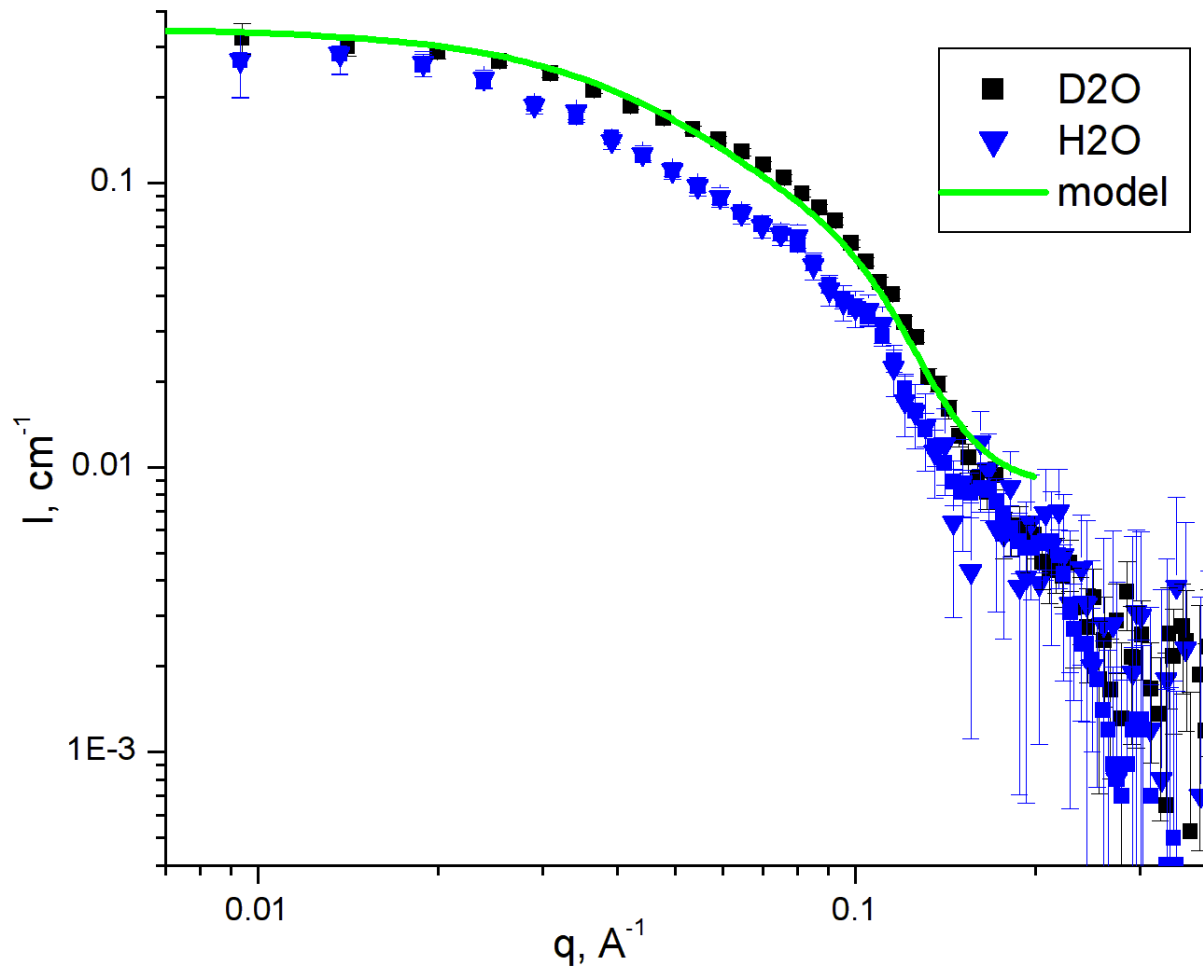
## Благодарности

Данная работа была поддержана грантом РФФИ 14-24-01103 офи\_м «Метод структурно-динамической диагностики нуклеопротеидных мультимолекулярных комплексов в растворе, путем верификации структур, полученных методами молекулярной динамики, в спектрах малоуглового рентгеновского и нейтронного рассеяния». Результаты работы были получены с использованием вычислительных ресурсов МВК НИЦ «Курчатовский институт» (<http://computing.kiae.ru>) и ДИиВТ Санкт-Петербургского университета Петра Великого (<http://www.spbstu.ru>).

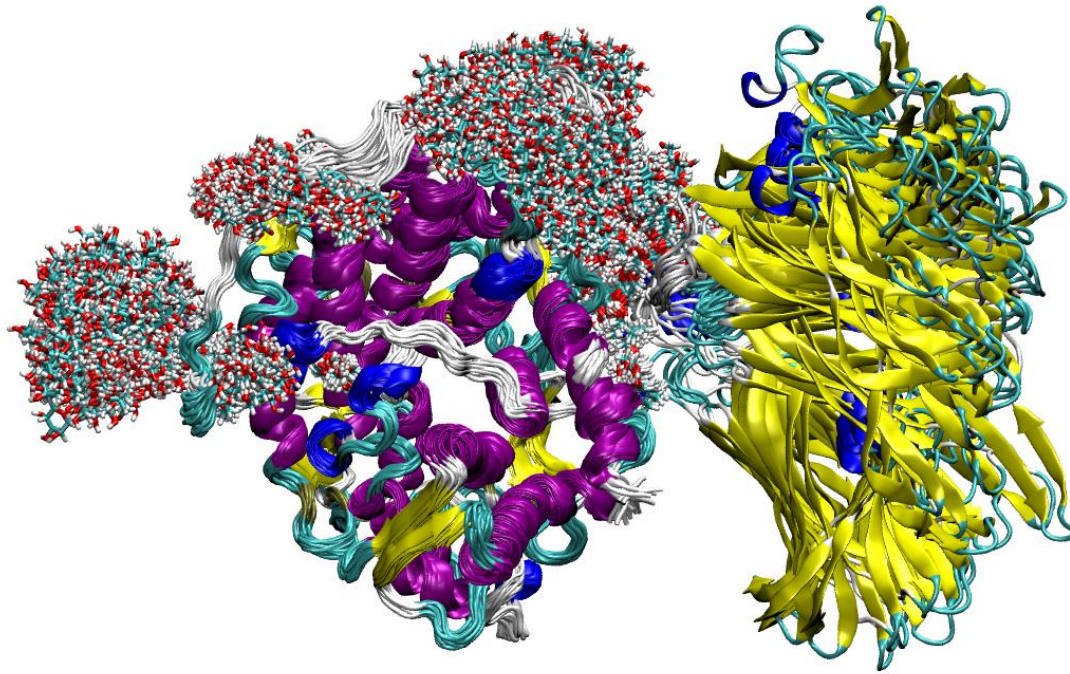
# Схема О-гликозилирования белков в дрожжах *Pichia pastoris* и грибах подсемейства *Aspergillus*



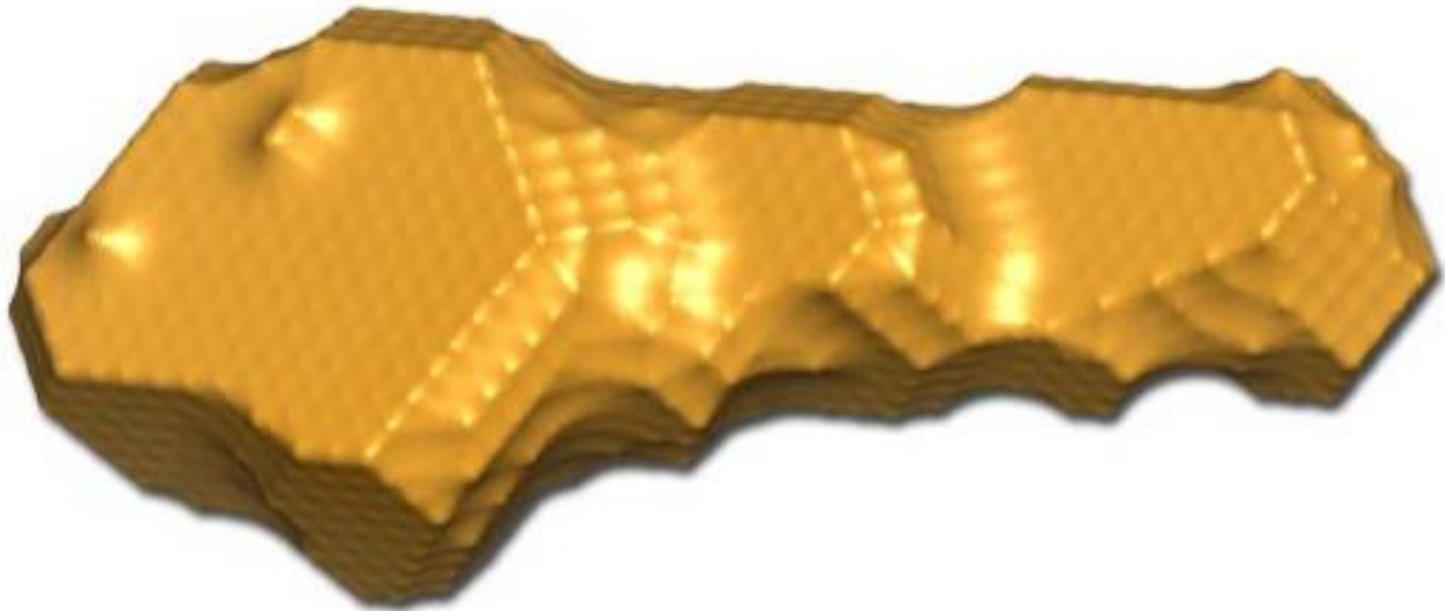
# Спектры малоуглового рассеяния нейтронов глюкоамилазы



# МД ансамбль глюкоамилазы GA1 с учетом N- и O-гликозилирования



# Модель глюкоамилазы в низком разрешении



*Jørgensen A.D. et al. // J. Biol. Chem. 2008, V. 283 (21). P. 14772.*