

М. И. Богачев, Е. О. Михайлова, А. Р. Каюмов

## СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ БЕЛКОВ-СУБСТРАТОВ ПРОТЕИНАЗЫ ClpP В КЛЕТКАХ *BACILLUS SUBTILIS*

Ключевые слова: протеиназа ClpP, множественное выравнивание, статистический анализ.

Одним из механизмов ответа бактериальной клетки на стресс является перестройка метаболизма путем инактивации одних и активации других белков. Ненужные, а также поврежденные белки удаляются путем протеолиза. В клетках бацилл данную функцию выполняют ряд ферментов, АТФ-зависимых протеиназ: LonA, FtsH, а также протеиназы семейства ClpP. В настоящее время не идентифицирована аминокислотная последовательность для распознавания протеиназой ClpP и последующего протеолиза белка. В данной работе предпринята попытка определения возможного сайта распознавания протеиназой ClpP на основании экспериментальных данных, установленных ранее. Методом множественного выравнивания идентифицирован возможный сайт распознавания протеиназой ClpP.

Keywords: proteinase ClpP, multiple alignment, statistical analysis.

One of the mechanisms of bacterial cell response to the stress is the metabolism reconstitution by proteins activation and inactivation. Damaged and non-required proteins are removed by the proteolysis. In Bacilli, this role belongs to ATP-dependent proteases LonA, FtsH, as well as the ClpP family proteases. The amino acid sequence recognized by ClpP protease and following protein proteolysis remains unknown. Here we tried to identify the putative ClpP recognition site using the experimental data reported previously. By the multiple alignment approach we identified the putative ClpP recognition site.

### Введение

В естественной среде обитания бактерии постоянно подвергаются различным стрессам – температурному, холодовому, голоданию по макро и микроэлементам. Ответом клетки на изменение внешних условий в негативную сторону является перестройка метаболизма, заключающаяся в инактивации одних и активации других генов. Ненужные в новых условиях существования белки, а также белки с нарушенной структурой и функцией удаляются путем протеолиза [1; 2]. В клетках бацилл данную функцию выполняют ряд ферментов, АТФ-зависимых протеиназ: LonA [3], LonB [4], FtsH [5], и HslUV (также называемая ClpYQ; 6), а также протеиназы семейства Clp, которые играют ведущую роль во внутриклеточной протеолитической системе клетки, а также в патогенезе болезнетворных бактерий [7; 8; 9].

Протеиназа ClpP в клетках бактерий находится в олигомерном комплексе с АТФазами ClpA, ClpE или ClpX, и осуществляет направленный протеолиз регуляторных и дефектных белков. Протеиназа ClpP из *E.coli* распознает субстрат для расщепления по правилу N-конца. Этот механизм маркирования субстрата для протеолиза высоко консервативен и основан на специфичном распознавании олигопептидной последовательности из определенных аминокислот [10]. У многих бактерий, например, таким сигналом является последовательность гидрофобных ароматических аминокислот (тирозин, триптофан, фенилаланин и лейцин) [11]. Необходимо отметить, что белки, содержащие маркер N-концевого правила, как правило, не образуются при нормально протекающих процессах трансляции и N-концевого процессинга, а возникают в результате расщепления эндопротеиназами [12]. В настоящее время в ряде работ были экспериментально установлены

белковые субстраты, распознаваемые протеиназой ClpP и ее АТФазами ClpC и ClpX [1]. Тем не менее, остается неидентифицированной аминокислотная последовательность, являющаяся маркерной для распознавания протеолитическим комплексом и последующего протеолиза белка. В данной работе предпринята попытка определения возможного сайта распознавания протеиназой ClpP на основании экспериментальных данных, установленных ранее.

### Результаты и обсуждение

Выборки аминокислотных последовательностей белков, подверженных деградации протеиназой ClpP составляли на основании данных [1]. Список белков представлен в таблице 1. В таблице жирным выделены белки, для которых факт расщепления протеиназой ClpP был ранее подтвержден экспериментально *in vitro*.

**Таблица 1 - Субстраты для распознавания АТФазой ClpC**

Субстраты для распознавания АТФазой ClpC
<b>ComK, SpoIIAB, CtsR, MurAA, GlnS, AroA1, CarB, IlvA, IlvB, GltA, LeuC, LeuD, LysC, NrdEN, PurF, PurL, PurQ, PyrB, BioB, ThiC, ThiDC, YjbV, ThrZ, Ctc, MtnK(YkrT), MtnS(YkrS)</b>

Мы предположили, что все субстраты протеиназы ClpP должны обладать единой гомологичной областью, являющейся консенсусной для распознавания. Для ее поиска и идентификации использовался алгоритм локального множественного выравнивания, представляющий собой модификацию подхода *Smith-Waterman* [8]. На первом этапе провели выравнивание аминокислотных последовательностей белков ComK, SpoIIAB, CtsR, MurAA, достоверно распознаваемых АТФазой ClpC, и