

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗ ПОСРЕДСТВОМ ХОЛЕСТЕРОЛ СВЯЗЫВАЮЩИХ САЙТОВ

А. В. Литвинчук, Н. С. Мышковец

Гомельский государственный медицинский университет,
г. Гомель, Республика Беларусь

Актуальность. Аденилатциклазы (АЦ 1-10) представляют собой семейство ферментов, которые катализируют превращение АТФ в цАМФ с широким спектром физиологических функций, и нарушение их активности играет ключевую роль в развитии патологий. Приоритетным направлением современной фармакологии является создание изоформ-селективных модуляторов этого фермента.

Целью исследования был поиск возможной прямой модуляции аденилатциклаз через специальные холестерол узнаваемые аминокислотные последовательности CARC и CRAC (cholesterol recognition/amino acid consensus) которые были определены структурным анализом как мотивы (K/R)-X₁₋₅-(Y/F)-X₁₋₅-(L/V) от N-конца к C-концу (Baier et al., 2011).

Материалы и методы исследования. В нашем исследовании мы провели комплексный анализ *in silico*, включая множественное выравнивание последовательностей (MSA), прогнозирование сайтов связывания, моделирование структуры AlphaFold2 и молекулярный докинг. Выполнен анализ активности мутантных изоформ АЦ7.

Результаты. Проведенный анализ позволил выявить специфичные участки связывания холестерола характерные для АЦ2, АЦ4 и АЦ7 группы, которых нет у других изоформ АЦ. (R. Jaroušek, Litvinchuk et al., 2025). Учитывая особенности структуры холестерина, проведено исследование по связыванию двух эндогенных его производных – гидрокортизона и 25-гидроксихолестерина, а также синтетического аналога дексаметазона. Выполненный анализ *in silico*, показал, что гидрокортизон, дексаметазон и 25-гидроксихолестерин могут взаимодействовать с CARC/CRAC мотивами, которые оказались расположенными вблизи сайта связывания форсколина. Ранее было установлено (Zhang G, 1997), что сайт связывания форсколина идентичен в трехмерных структурах мембранных АЦ (АЦ1-АЦ8 изоформ) и представляет собой гидрофобный карман, находящийся на стыке двух каталитических доменов. Таким образом, можно говорить об истинном внутриклеточном механизме регуляции аденилатциклаз. Форсколин являясь экзогенным активатором, имитирует действие эндогенных регуляторов, взаимодействуя с высококонсервативным участком фермента в непосредственной близости от мотивов, связывающих холестерол. Это указывает на то, что в естественных условиях активность АЦ может регулироваться холестеринем и/или его производными, что влияет на конформацию каталитических доменов фермента. Для подтверждения выдвинутого предположения мы получили мутантные белки АЦ7 (L326G, I933G) и (D393G, V394G), в которых изменены аминокислоты, отвечающие за образование водородных связей в сайте связывания форсколина, а также эти аминокислоты входят в сайты для связывания холестерола.

Заключение. Результаты измерения активности *in vitro* этих мутантов доказывают связывание холестерола с АЦ7 и подтверждают данные полученные *in silico*. Мы полагаем, что дальнейшее углублённое изучение структурных особенностей изоформ АЦ будет способствовать разработке высокоселективных терапевтических средств.