

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-178

АНАЛИЗ СТРУКТУРНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ФЕРМЕНТА ЦЕЛЛЮЛАЗЫ (CEL7465) МЕТОДАМИ МАЛОУГЛОВОГО РЕНТГЕНОВСКОГО РАССЕЙВАНИЯ***ANALYSIS OF STRUCTURAL CHARACTERISTICS OF THE ENZYME CELLULASE (CEL7465) BY SMALL-ANGLE X-RAY SCATTERING METHODS**

Н. А. Смольянова^{1,2}, Н. С. Гараева², Э. Э. К. Агбоигба³, Н. В. Трахтманн³, Ш. З. Валидов³, А. И. Иванов⁴, А. В. Рогачев⁴, К. С. Усачев², С. В. Тошчаков², М. В. Патрушев², И. Н. Лаврик², М. М. Юсупов², А. Д. Никулин¹

¹Институт белка РАН, Пуццино

²Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

³Казанский научный центр РАН

⁴Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный

N. A. Smolyanova^{1,2}, N. S. Garayeva², E. E. K. Agboigba³, N. V. Trachtmann³, Sh. Z. Validov³, A. I. Ivanov⁴, A. V. Rogachev⁴, K. S. Usachev², S. V. Toshchakov², M. V. Patrushev², I. N. Lavrik², M. M. Yusupov², A. D. Nikulin¹

¹Institute of Protein Research RAS, Pushchino

²National Research Centre "Kurchatov Institute", Moscow

³Kazan Scientific Center RAS

⁴Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Dolgoprudny

✉ smolyanova_natulya@mail.ru

Аннотация

В современных биотехнологических процессах достижение экономической рентабельности во многом определяется использованием стабильных и высокоэффективных ферментов. Эти биокатализаторы играют ключевую роль в различных отраслях промышленности, обеспечивая эффективное проведение химических реакций в мягких условиях, что значительно снижает энергозатраты и минимизирует образование вредных побочных продуктов. Особенно важное значение ферментные препараты приобретают в пищевой индустрии и процессах переработки растительного сырья в ценные продукты, где они позволяют осуществлять сложные биохимические превращения с высокой специфичностью и селективностью. К таким относятся белки, разрушающие полисахариды растений, — пектиназы, целлюлазы, альфа-амилазы. В рамках этой работы была изучена новая, ранее не описанная целлюлаза cel7465 из термальной скважины Бирагзанг (Респ. Северная Осетия — Алания). Исследование метагеномного контига, содержащего данный ген, а также изучение аминокислотной последовательности cel7465 указывают на то, что данный фермент принадлежит некультивируемому микроорганизму из *Fimbriimonadales*.

Abstract

In modern biotechnological processes, the achievement of economic profitability is largely determined by the use of stable and highly effective enzymes. These biocatalysts play a key role in various industries, ensuring efficient chemical reactions under mild conditions, which significantly reduces energy consumption and minimizes the formation of harmful by-products. Enzyme preparations are particularly important in the food industry and in the processing of plant raw materials into valuable products, where they allow complex biochemical transformations with high specificity and selectivity. These include proteins that destroy plant polysaccharides — pectinases, cellulases, alpha-amylases. In the framework of this work, a new, previously undescribed cellulase cel7465 from the Biragzang thermal well (Rep. North Ossetia-Alania). The study of the metagenomic contig containing this gene, as well as the study of the amino acid sequence cel7465, indicates that this enzyme belongs to an uncultivated microorganism from *Fimbriimonadales*.

Ген cel7465 был амплифицирован с метагеномной ДНК и клонирован в экспрессионный вектор pET28a. Целлюлаза 7465, полученная в результате экспрессии в клетках *Escherichia coli*, была обнаружена в растворимой форме. Процесс очистки полученного фермента осуществлялся в два этапа: сначала применялась металл-хелатная хроматография с использованием Ni-NTA сорбента, затем следовала эксклюзионная хроматография. *In vitro* тестирование на карбокси-метил целлюлозе продемонстрировало способность очищенной целлюлазы эффективно функционировать при высоких температурах в различных значениях pH. Исследование фермента Cel7465 включало анализ его структурных характеристик с помощью малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР) что позволило определить форму и размеры белковой молекулы. Данные МУРР обрабатывали в пакете программ

* Исследование выполнено в рамках соглашения № 075-15-2025-012 о предоставлении из федерального бюджета гранта в форме субсидии в целях реализации научного проекта под руководством привлекаемого ведущего ученого.

© Н. А. Смольянова, Н. С. Гараева, Э. Э. К. Агбоигба, Н. В. Трахтманн, Ш. З. Валидов, А. И. Иванов, А. В. Рогачев, К. С. Усачев, С. В. Тошчаков, М. В. Патрушев, И. Н. Лаврик, М. М. Юсупов, А. Д. Никулин, 2025

ATSAS. Полученная 3D-модель электронной плотности имеет глобулярную форму, радиус гирации составлял $R_g = 21,65 \text{ \AA}$. Сопоставление полученных экспериментальных данных с рассчитанной структурой Cel7465 в программном пакете AlphaFold3 ($54 \times 51 \times 50 \text{ \AA}$) указывает на наличие мономерной глобулярной формы белка в растворе. Разработанный протокол позволяет перейти к следующему этапу структурных исследований методом рентгеноструктурного анализа.