

ТОПОЛОГИЯ КОНТАКТОВ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ЛИГАНДОВ ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ *UxuR Escherichia coli*, ПОЛУЧЕННАЯ МЕТОДОМ ГИБКОГО ДОКИНГА

© 2019 г. Ю.А. Пургов* **, М.Н. Тутукина*, А.Д. Никулин**, О.Н. Озолинь*

*Институт биофизики клетки Федерального исследовательского центра «Пуцинский научный центр биологических исследований РАН», 142290, Пушино, ул. Институтская, 3

**Институт белка РАН, 142290, Пушино, ул. Институтская, 4

E-mail: ozoline@rambler.ru

Поступила в редакцию 25.10.18 г.

После доработки 25.10.18 г.

Принята к публикации 19.11.18 г.

UxuR является фактором транскрипции, контролирующим экспрессию генов утилизации гексуронатов. Его способность связываться с промоторами регулируемых генов зависит от лигандов сахарной природы. Ранее, на поверхности мономера *UxuR* были обнаружены две области предпочтительного взаимодействия с D-глюкуронатом и D-галактуронатом, одна из которых расположена в области линкера, соединяющего N- и C-концевые домены белка. Связывание лиганда в этом участке может изменить взаимную ориентацию доменов белка, влияя на взаимодействие *UxuR* с ДНК. Второй участок связывания обнаружен в кармане C-концевого домена, и регуляторный эффект может объясняться либо конформационными изменениями в домене, либо влиянием на димеризацию белка. Нами получена 3D-модель димера *UxuR* и проведен докинг ряда сахаров на ее поверхность. На стыке двух C-концевых доменов в димере *UxuR* обнаружена площадка для связывания углеводов. С линкерами C-концевых доменов взаимодействовали разные сахара, в том числе такие, которые могут проникать в карманы C-концевого домена со стороны междоменного пространства. Потенциально это позволяет транспонировать регуляторный сигнал, обусловленный заполнением кармана, в конформационный переход, изменяющий взаимную ориентацию доменов.

Ключевые слова: молекулярный докинг, сахара, гексуронаты, *UxuR*.

DOI: 10.1134/S0006302919010071

Одним из источников углерода, доступных гаммапротеобактериям, являются гексуронаты и гексурановые кислоты. Их катаболизм важен для колонизации кишечного эпителия и подвижности разных бактерий [1–4]. Впервые этот метаболический путь был описан Эшвеллом с коллегами [5,6] и получил название пути Эшвелла. Он обеспечивает субстрат для метаболического пути Энтнера–Дудорова и эволюционно предшествует пути Эмбдена–Мейерхофа–Парнаса (гликолиз).

Биосинтез и транспорт сахаров и их производных в пути Эшвелла находится под контролем ключевого фактора транскрипции *UxuR* [7], который обеспечивает эффективный рост бактерий в присутствии глюкуроната [8]. *UxuR* является репрессором собственного гена *uxuR* [9–11], контролирует экспрессию генов,

кодирующих основные ферменты пути Эшвелла (D-маннонатдегидратазу *UxuA*, оксидоредуктазу *UxuB*, β-глюкуронидазу *UidA*, тагатуронат-редуктазу *UxaB*, D-глюкуронат/D-галактуронатизомеразу *UxaC* и D-альтронатдегидратазу *UxaA*), а также генов транспортных белков *UidB* и *UidC*. Многие из этих генов входят также в регулон белка *ExuR*, паралога и структурного гомолога *UxuR* [9].

Оба регуляторных белка принадлежат семейству факторов транскрипции, прототипом которого является белок *GntR*. Все белки этого семейства состоят из двух доменов, соединенных слабо структурированным линкером. N-концевой домен является ДНК-связывающим и несет характерный мотив «спираль–поворот–спираль» (helix–turn–helix), участвующий во взаимодействии с ДНК; C-концевой домен ответственен за димеризацию белка и, как предполагается, за связывание с регуляторными низкомолекулярными лигандами [9,12]. На осно-

Сокращение: СТД – С-концевой домен.

вании биохимических исследований было показано, что интермедиаты путей Эшвелла и Энтнера–Дудорова могут влиять на взаимодействие UxuR с ДНК [13].

Структурное моделирование комплексов различных углеводов с мономерами EhuR и UxuR методом гибкого докинга [14] выявило один потенциальный сайт связывания D-глюкуроната, D-галактуроната и D-фруктуроната на поверхности EhuR (с различающейся для разных углеводов аффинностью) и два сайта на поверхности UxuR. Единственное место связывания этих лигандов, обнаруженное на поверхности EhuR, располагается на гибком линкере, соединяющем N- и C-концевой домены, там же, где находится один из лигандсвязывающих сайтов на поверхности UxuR. Взаимодействие с углеводами в междоменном пространстве может повлиять на взаимное позиционирование N- и C-концевых доменов при образовании комплексов с ДНК и поэтому заслуживает особого внимания. Второе место связывания гексуронатов, обнаруженное только для UxuR, находится на C-концевом домене, который, согласно литературным данным, принимает участие в лиганд-зависимой олигомеризации белка [9,12]. Однако лиганды размещались не на поверхности домена, а в белковом кармане, что затрудняло понимание механизма их предполагаемого влияния на димеризацию UxuR. В данной работе исследованы сайты взаимодействия этих же лигандов с димером UxuR, на поверхности которого могли бы быть обнаружены дополнительные сайты для их связывания.

Из восьми исследованных углеводов [14] наибольшее изменение свободной энергии (ΔG , аффинность) в экспериментах с разными моделями белка была получена для D-фруктуроната и D-глюкуроната ($-5,7 \div -6,2$ ккал/моль), взаимодействующих с карманом C-концевого домена UxuR. Значения ΔG для других простых сахаров лежали в области 0,9 ккал/моль. Для лигандов, взаимодействующих с междоменным линкером EhuR и UxuR, наиболее предпочтительным лигандом оказался D-галактуронат ($\Delta G = -4,94 \div -5,2$ и $-5,1 \div -5,7$ ккал/моль соответственно). Для остальных модельных углеводов значения ΔG были очень близки, варьируя в диапазонах 0,76 ккал/моль (EhuR) и 1,1 ккал/моль (UxuR), а сайты их связывания перекрывались. Это сходство в потенциальной способности разных лигандов связываться с междоменным линкером структурно гомологичных белков позволяет предполагать, что UxuR и EhuR могут находиться под контролем ши-

рокого спектра сахаров, участвующих в разных биохимических путях, что позволяет обеспечить более тонкую настройку клеточного метаболизма. Поэтому в данной работе 3D-модель димера UxuR была использована для идентификации потенциальных мест связывания не только с простыми сахарами, но и с углеводами более сложной структуры, которые являются субстратами и интермедиатами природных метаболических путей.

Для моделирования в работе использован широко распространенный метод молекулярного докинга, позволяющий определить наиболее выгодный для образования устойчивого комплекса способ физического контакта заданного белка с низкомолекулярным лигандом [15,16]. Предсказанное этим методом высокое сродство D-глюкуроната и D-галактуроната к EhuR и UxuR было подтверждено экспериментально [14], а выявленная нами разница в топологии контактов этих лигандов по сравнению с D-глюкозой позволила объяснить различия в их способности дестабилизировать олигомерную форму белка Dps [17]. В данной работе метод молекулярного докинга был использован для поиска дополнительного сайта связывания простых сахаров на поверхности C-концевого домена в димере UxuR, а также для визуализации потенциальных контактов и проведена оценка стабильности комплексов, формируемых этим белком со сложными углеводами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовавшиеся в работе модели молекул сахаров. В работе были использованы модели сахаров альфа-D-глюкозы, бета-D-глюкозы, D-фруктуроната, D-галактуроната, D-глюконата, D-глюконовой кислоты, D-глюкуроната и D-глюкуроновой кислоты (эти сахара использовались в работе [14]). 3D-модели сахаров получены из базы данных PubChem DB и подготовлены для моделирования с помощью программы OpenBabel (v. 2.2.3) [18]. Для оценки стерических препятствий, накладываемых конфигурацией междоменных линкеров в составе димера UxuR, а также размерами белкового кармана в C-концевом домене мономера, использован дополнительный набор природных углеводов. Он включал относительно небольшие производные глюкозы (глюкозо-6-фосфат) и фруктозы (фруктозо-6-фосфат и фруктозо-1,6-дифосфат), потенциально способные разместиться в белковом кармане, а также более сложные сахара – лакто-N-фукопентаозу I, II и III, лакто-N-дифукогексаозу, сиалиллакто-N-тетраозу b, лакто-N-тетраозу и лакто-N-неотет-

раозу. 3D-модели этих сахаров были получены из баз данных PubChem или ChemSpider и подготовлены для моделирования с помощью пакета программ Avogadro (v. 1.2.0) [19].

Реконструкция димера UxuR. Реконструкция трехмерной структуры димера UxuR осуществлена с использованием аминокислотной последовательности UxuR *Escherichia coli* K-12 MG1655 (T00007 KEGG [20]). Поиск модели и реконструкцию белка проводили с помощью онлайн-ресурса SWISS-MODEL [21]. За основу был взят белок GntR из *Streptococcus agalactiae* (6az6 PDB [22]), с совпадением по последовательности 27,19% и покрытием 84% (аминокислоты с 10-й по 231-ю). Его выбор был обусловлен наибольшим покрытием по последовательности в области ДНК-связывающего N-концевого домена.

Реконструкция полного димера UxuR на основе полученной в SWISS-MODEL модели проведена с использованием пакета программ Swiss-PdbViewer v. 4.1.0 [23]. Полученная структура проведена через молекулярно-динамическую симуляцию для изучения позиционной вариативности атомов в белке и выбора структур для докинга. Для этого использовали пакет программ OpenMM Zephyr (v. 2.0.3) [24]. Симуляцию проводили при температуре 310,15 К в силовом поле Amber96 и среде «accurate water» в течение 100 нс. В качестве мишеней для докинга использовали структурные модели белка, соответствующие девяти наносекунде траектории. Обсуждаемые в статье результаты отражают их общие закономерности, а приведенные числовые параметры соответствуют модели, полученной на девяти наносекунде молекулярно-динамической траектории, результаты модельного докинга на которую простых сахаров лучше всего соответствовали экспериментальным данным [14].

Гибкий молекулярный докинг. Гибкий молекулярный докинг осуществляли с использованием программного ресурса Autodock VINA package [25]. Все потенциально подвижные связи в структуре каждого лиганда сохраняли гибкими. Вначале для каждого лиганда были определены места предпочтительного связывания и для девяти молекул (моделей), формирующих наиболее стабильные комплексы с белком, рассчитаны величины ΔG . Затем методом последовательного докинга была определена заселенность каждой выявленной поверхности взаимодействия с лигандами. Производилась серия последовательных расчетов, в каждом из которых учитывали результаты предыдущих раундов докинга, при этом лиганды с самой большой аффинностью последовательно добавля-

лись к мишени и полученные комплексы использовались в следующем раунде докинга. Для каждого углевода проводили по 10 последовательных итераций. Для визуализации результатов докинга использовали AutoDockTools Python Molecular viewer (v. 1.5.6) [26].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Однократный докинг простых сахаров свидетельствует об инвариантности мест их связывания в мономере и димере UxuR. Ранее было установлено, что предпочтительными местами связывания простых сахаров с мономером UxuR являются два участка, один из которых расположен в междоменном линкере, а второй – в кармане С-концевого домена, формируемом его альфа-спиралями. Наиболее стабильными оказались формируемые в кармане С-концевого домена (CTD) комплексы с сахарами, влияющими на взаимодействие UxuR с ДНК [14], т.е. D-глюкуронатом и D-галактуронатом, а также с D-фруктуронатом, функциональная активность которого не исследовалась. При исследовании димера UxuR эта закономерность была полностью подтверждена (рис. 1а, 2а).

Для остальных пяти лигандов этой группы предпочтительными местами связывания в димере UxuR тоже оказались только две выявленные ранее области (рис. 1а). Сайты связывания функционально значимых для взаимодействия с ДНК D-глюкуронатом и D-галактуронатом на стыке двух С-концевых доменов в серии однократного докинга обнаружены не были.

Полученные при расчете диапазоны значений аффинности для каждого из лигандов и при сравнении всех восьми простых сахаров свидетельствуют об отсутствии явно выраженной специфичности их связывания с белком (рис. 2а). Некоторым исключением является D-глюкуроновая кислота, для комплексов с которой наблюдалась небольшая немонотонность в изменении ΔG при переходе от двух мест с наиболее предпочтительным связыванием к остальным сайтам взаимодействия.

Однократный докинг простых сахаров, таким образом, свидетельствовал об инвариантности мест их связывания в модели мономера и димера UxuR, не выявил более явных предпочтений к каким-то из них по сравнению с тем, что было получено ранее [14], и не позволил обнаружить новые сайты для связывания D-глюкуроната и D-галактуроната на поверхности белка.

Однократный докинг сложных сахаров свидетельствует о наличии дополнительного места

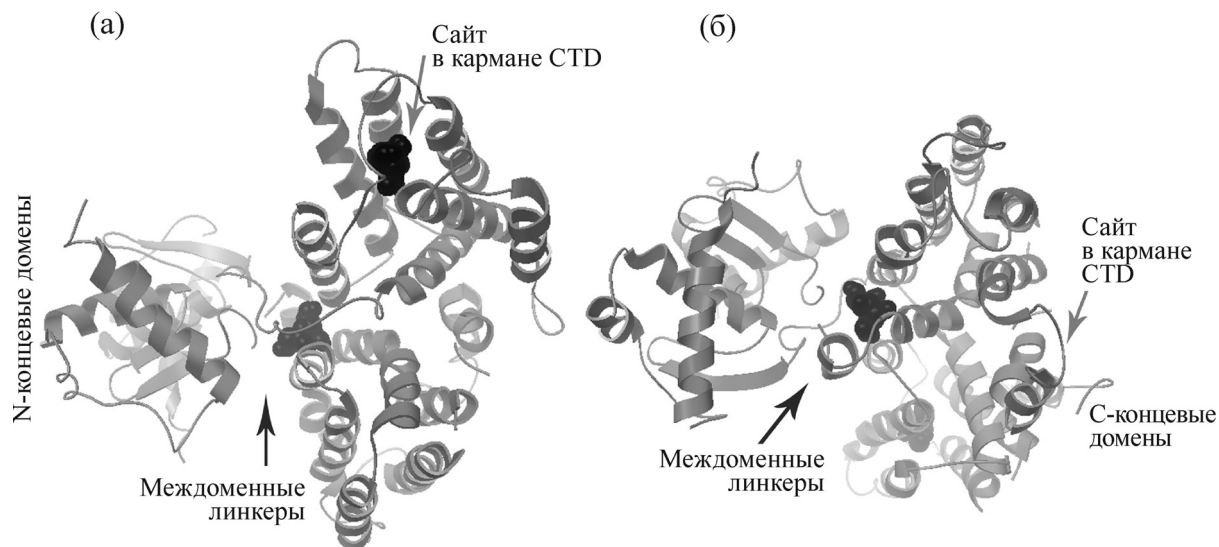


Рис. 1. Две проекции, показывающие расположение предпочтительных мест связывания модели молекулы D-фруктуроната на модели димера UxuR, соответствующей девятистой наносекунде молекулярно-динамической симуляции: (а) – связывание D-фруктуроната с карманом на стыке образующих C-концевой домен альфа-спиралей и в области междоменных линкеров; (б) – проекция, показывающая связывание D-фруктуроната с поверхностью молекулы белка, образованной междоменными линкерами и поверхностью C-концевого домена.

связывания на стыке двух C-концевых доменов UxuR. Топология сайтов предпочтительного связывания более сложных лигандов несколько отличалась от мест контакта простых сахаров. Они по-прежнему взаимодействовали с общей областью, формируемой междоменными линкерами, которая, однако, стала более протяженной, распространившись до стыка с N- (рис. 3а) и C-концевыми доменами.

Преимущественное взаимодействие с карманом CTD было обнаружено для относительно небольшой молекулы фруктозо-6-фосфата ($\Delta G = -4,7$ ккал/моль), но самый стабильный комплекс, частично захватывающий этот карман, формировался с протяженной молекулой лакто-N-фукопентаозы II ($\Delta G = -6,3$ ккал/моль, рис. 3в). Важно, что шесть из десяти сложных лигандов второй группы имели предпочтительные сайты связывания на стыке двух CTD. К ним, в частности, относятся D-глюкозо-6-фосфат и D-фруктозо-1-6-бисфосфата, формирующие с этой областью самые прочные комплексы (рис. 2б). С меньшей аффинностью с этой поверхностью белка взаимодействовали и остальные углеводы (см. пример на рис. 3г). Это может объяснить экспериментально установленное влияние сахаров на димеризацию UxuR [13,14] и, таким образом, на присутствие в бактериях функционально активных молекул регуляторного белка.

Значения аффинности для этой группы лигандов варьировали в большем диапазоне, чем

для простых сахаров (рис. 2), но большинство из них проявляет явную корреляцию с размером молекул, что не позволяет позиционировать какой-либо из сложных сахаров в качестве специфического регулятора UxuR. Некоторым исключением могут быть только D-глюкозо-6-фосфат и D-фруктозо-1-6-бисфосфат, контакты которых в лучших сайтах связывания на белке сопоставимы по стабильности с гораздо более крупными углеводами (рис. 2б).

Карман C-концевого домена UxuR может быть интегрирован в общий с междоменными линкерами интерфейс связывания углеводов. Протяженность участка, вовлеченного в связывание простых и сложных углеводов на поверхности UxuR, и отсутствие явной специфичности позволяют предположить, что регуляторное воздействие, осуществляемое через поверхностные контакты, может быть реализовано с участием нескольких и, возможно, разных лигандов. Для оценки «концентрационной» зависимости их взаимодействия осуществлен последовательный докинг десяти молекул каждого лиганда. По-прежнему преимущественными областями связывания лигандов оставались междоменные линкеры, пространство между двумя CTD и карман на стыке альфа-спиралей, формирующих CTD.

Аффинность большинства лигандов в последовательных итерациях колебалась в диапазоне 1,0–1,4 ккал/моль, проявляя естественную тенденцию к снижению на более поздних этапах

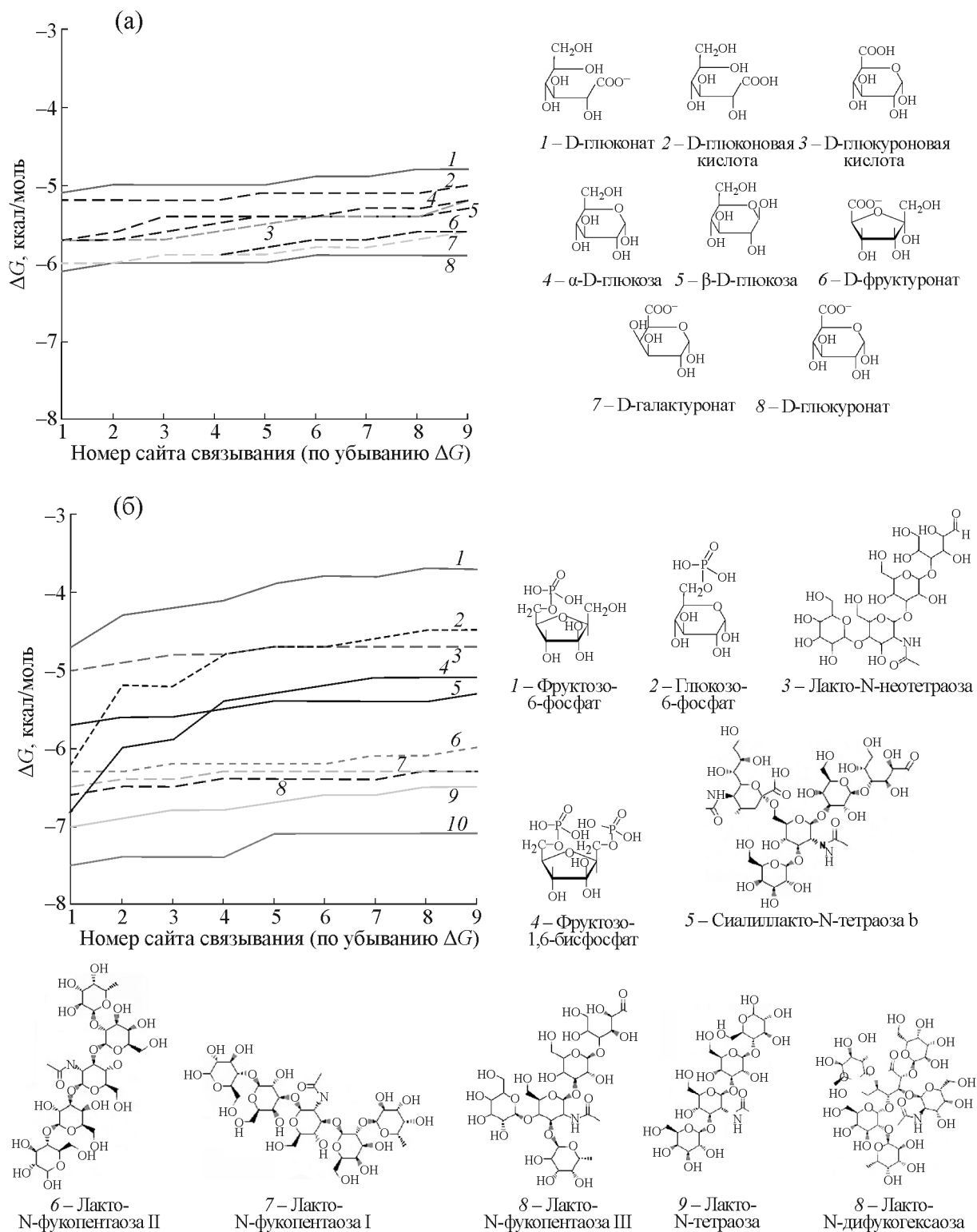


Рис. 2. Диапазоны изменения значений аффинности исследованных лигандов для модели димера UxuR. Показаны значения ΔG формирования наиболее стабильных комплексов для каждого лиганда, ранжированные по убыванию аффинности.

моделирования. Однако для некоторых лигандов перепад между максимальной и минимальной энергией связывания был больше. Так, для

фруктозо-6-фосфата, глюкозо-6-фосфата и лакто-N-фукопентаозы I он достигал 2,0–2,5 ккал/моль. Во всех случаях это обусловлено

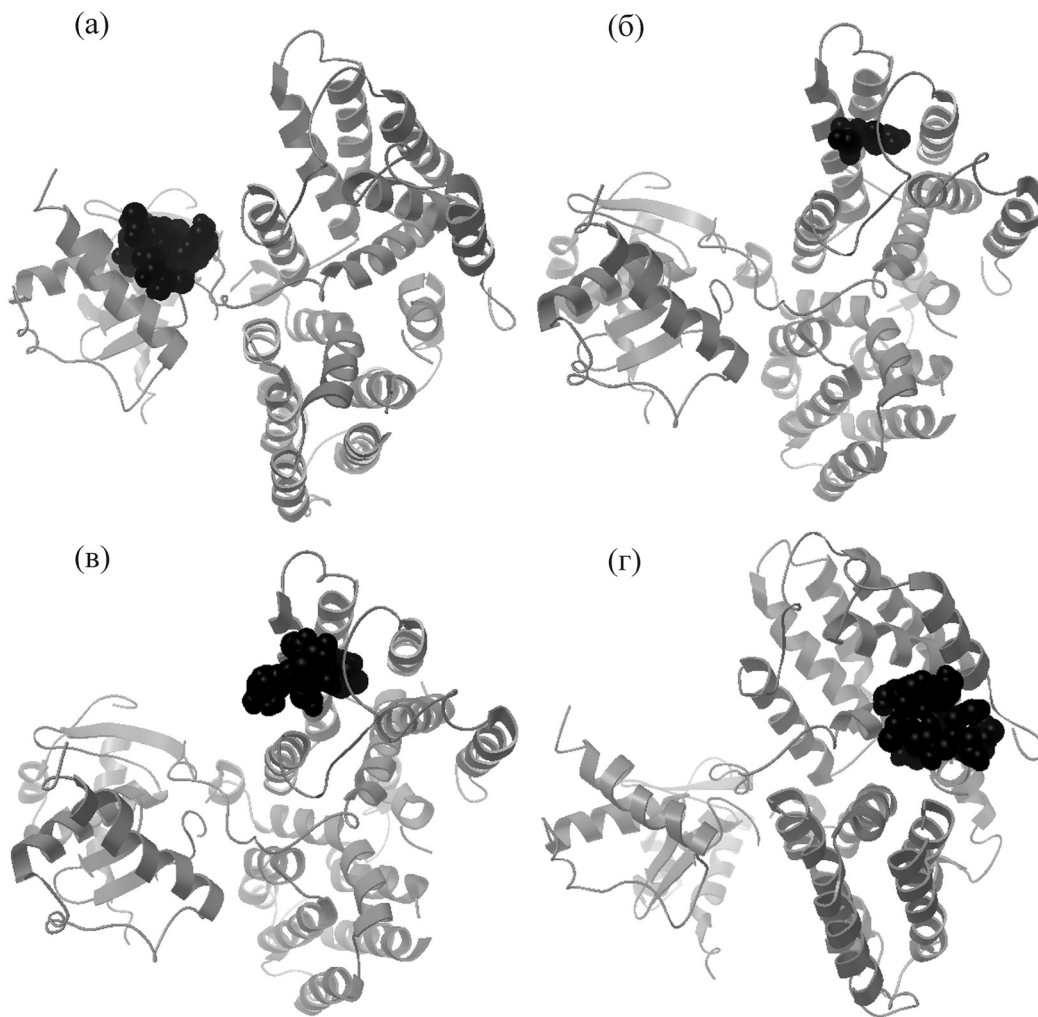


Рис. 3. Примеры расположения предпочтительных мест связывания сложных лигандов на димере UxuR (модель, полученная на девятистой наносекунде молекулярно-динамической симуляции): (а) – связывание молекулы лакто-N-фукопентаозы III в области междоменных линкеров с примыканием к N-концевым доменам; (б) – связывание молекулы D-фруктозо-6-фосфата в кармане CTD; (в) – связывание молекулы лакто-N-фукопентаозы II в кармане CTD; (г) – связывание молекулы сиаиллакто-N-тетраозы b с поверхностью первой альфа-спирали CTD, находящейся на стыке двух субъединиц.

резким увеличением аффинности на каком-то из последовательных раундов докинга. Для простых сахаров этот эффект был минимальным, хотя наблюдался для D-фруктуроната при присоединении пятой молекулы следом за четвертой в области междоменного линкера (рис. 4а). Для сложных углеводов перекрытие мест связывания оказалось типичным явлением (рис. 4б, 4в) и в случае лакто-N-фукопентаозы III, заполнение междоменного пространства сопровождалось частичным проникновением девятой молекулы в карман CTD (рис. 4в).

Для сложных углеводов близкое расположение мест связывания и даже частичное наложение друг на друга двух или нескольких молекул оказалось типичным явлением (рис. 4б, 4в). В случае лакто-N-фукопентаозы III запол-

нение междоменного пространства сопровождалось частичным проникновением девятой молекулы в карман CTD (рис. 4в).

Эффект накопления лигандов в участках предпочтительного взаимодействия сильнее всего выражен в области междоменных линкеров (рис. 4б, 4в). Так как стерические препятствия в месте стыка двух CTD, где также формируются перекрывающиеся комплексы (рис. 4б), совсем отсутствуют, то эту особенность нельзя объяснить большим размером области пересечения междоменных линкеров. Не исключено, что определяющим является структурная подвижность линкеров, позволяющая им «подстраиваться» для взаимодействия с разными лигандами. Их способность формировать стабильные комплексы практически со всеми уг-

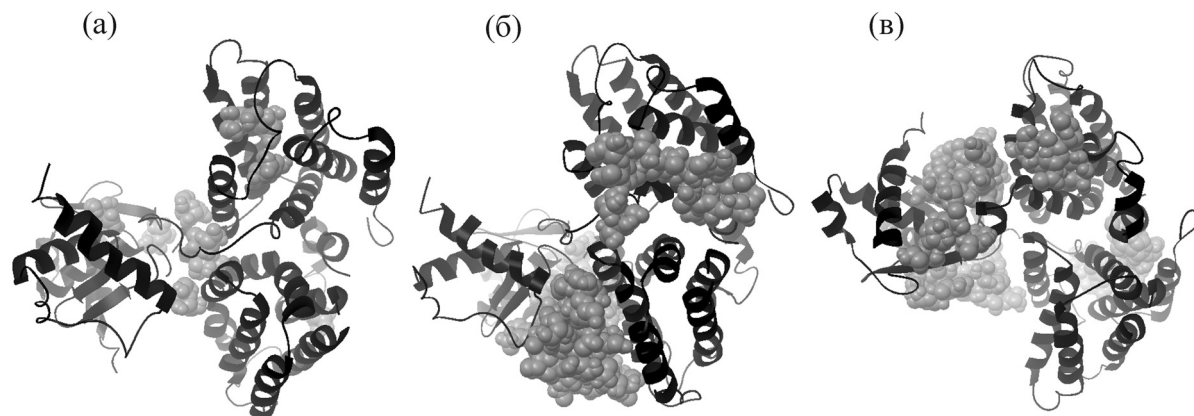


Рис. 4. Расположение предпочтительных мест связывания молекул D-фруктуроната (а), сиалиллакто-N-тетраозы b (б) и лакто-N-фукопентаозыIII (в) на модели димера UxuR, соответствующей девяностой наносекунде молекулярно-динамической симуляции, при последовательном гибком докинге.

леводами дает возможность позиционировать их как внутримолекулярный «сенсор», способный получать информацию о метаболическом состоянии клетки по типу и количеству взаимодействующих с ним углеводов и транспонировать ее в регуляторный сигнал посредством влияния на взаимное позиционирование ДНК-связывающих доменов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты гибкого молекулярного докинга простых сахаров с моделью мономера UxuR в качестве мишени [14] выявили два факта. Во-первых, контактная поверхность белка в области междоменных линкеров оказалась протяженной и заведомо избыточной для специфического связывания любого из них. Во-вторых, аффинность всех использованных лигандов наблюдалась в узком, перекрывающемся диапазоне, что не предполагало избирательного связывания какого-либо из них. Взаимодействие с карманом С-концевого домена было более избирательным. Формирование в нем стабильных комплексов с D-фруктуронатом, D-галактуронатом и D-глюкуронатом, но не с D-глюкозой, соответствовало экспериментальным данным, свидетельствующим о позитивном влиянии D-галактуроната и D-глюкуроната, но не D-глюкозы на комплексообразование UxuR с промоторными областями регулируемых генов [14]. Поэтому вполне резонно было предположить, что карман STD является местом регуляторного воздействия, которое каким-то образом транспонируется в изменение функциональной активности белка. Было предложено два возможных сценария. Согласно первому из них, в составе димера UxuR карманы STD прилегают к поверхности белка, формирующей дополни-

тельную платформу для связывания лигандов, взаимодействие с которой зависит от заполнения внутримолекулярных карманов и влияет на димерную форму белка. Согласно второму – погружение простых сахаров в полость С-концевого домена может приводить к конформационному переходу, влияющему либо на взаимную ориентацию доменов, либо на их подвижность.

Дополнительное место контакта углеводов на поверхности STD в составе димера UxuR, действительно, было обнаружено нами в представленной работе, но оно не проецируется на карман. Возможность индуцированного конформационного перехода необходимо проверять другими методами, но уже сейчас ясно, что полость С-концевого домена не является изолированной. Оказалось, что она частично доступна даже для таких крупных углеводов, как лакто-N-фукопентаоза II (рис. 3в, 4в), лакто-N-неотетраоза и лакто-N-дифукогексаоза. Согласно модельным экспериментам, эти углеводы частично проникают в нее не со стороны торца, формируемого четырьмя альфа-спиралями, а через щель между альфа-спиралями 3 и 4, либо лежат на поверхности стыка альфа-спиралей 1 и 6. Это значит, что карман STD для «специфического» контакта малых лигандов интегрирован в поверхность белка, содержащую сайты связывания практически всех потенциальных лигандов.

Протяженная поверхность, образованная двумя междоменными линкерами, представляется адаптированной для связывания не одной, а нескольких молекул лиганда. Это значит, что ее можно рассматривать не только как переменный интерфейс взаимодействия с разными лигандами, но и как сенсор их количества в клетке. Особенно показательно наличие такого эффекта у фосфорилированных производных

глюкозы и фруктозы, являющихся интермедиатами метаболических путей Эмбдена–Мейерхофа–Парнаса (гликолиз) и Варбурга–Диккенса–Хореккера–Рэкера (пентозофосфатный путь окисления): глюкозо-6-фосфата, фруктозо-1-6-дифосфата и фруктозо-6-фосфата. Это соответствует представлению о том, что через UxuR осуществляется координация пути Эшвелла с прочими метаболическими путями утилизации углеводов.

Проблема, однако, заключается в том, что междоменные линкеры UxuR практически не структурированы. Поэтому сама возможность их влияния на взаимное позиционирование доменов представляется дискуссионной. Не исключено, что жесткость, необходимая для передачи регуляторного сигнала, создается именно каркасом взаимодействующих лигандов. В любом случае, полученные данные свидетельствуют о том, что регуляция бактериального метаболизма при участии UxuR может находиться в концентрационной зависимости от широкого спектра простых и сложных сахаров, а также интермедиатов путей их утилизации.

Основные исследования выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 18-14-00322 – для Ю.А. Пуртова и А.Д. Никулина).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. D. E. Chang, D. J. Smalley, D. L. Tucker, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 7427 (2004).
2. A. J. Fabich, S. A. Jones, F. Z. Chowdhury, et al., *Infect. Immun.* **76**, 1143 (2008).
3. N. Peekhaus and T. Conway, *J. Bacteriol.* **180**, 3495 (1998).
4. N. J. Sweeney, D. C. Laux, and P. S. Cohen, *Infect. Immun.* **64**, 3504 (1996).
5. A. Ashwell, A. J. Wahba, and J. Hickman, *Biochim. Biophys. Acta* **30**, 186 (1958).
6. A. Ashwell, A. J. Wahba, and J. Hickman, *J. Bio. Chem.* **235**, 1559 (1960).
7. P. Ritzenthaler, M. Mata-Gilsinger, and F. Stoerber, *J. Bacteriol.* **143**, 1116 (1980).
8. R. Portalier, J. Robert-Baudouy, and F. Stoerber, *J. Bacteriol.* **143**, 1095 (1980).
9. D. A. Rodionov, A. A. Mironov, A. B. Rakhmaninova, and M. S. Gelfand, *Mol. Microbiol.* **38**, 673 (2000).
10. P. Ritzenthaler and M. Mata-Gilsinger, *J. Bacteriol.* **150**, 1040 (1982).
11. I. A. Suvorova, M. N. Tutukina, D. A. Ravcheev, et al., *J. Bacteriol.* **193**, 3956 (2011).
12. S. Rigali, A. Derouaux, F. Giannotta, and J. Dusart, *J. Biol. Chem.* **277**, 12507 (2002).
13. C. Bates Utz, A. B., Nguyen D. J. Smalley, et al., *J. Bacteriol.* **186**, 7690 (2004).
14. M. N. Tutukina, A. V. Potapova, J. A. Cole, and O. N. Ozoline, *Microbiology* **162**, 1220 (2016).
15. T. Lengauer and M. Rarey, *Cur. Opin. Struct. Biol.* **6**, 402 (1996).
16. S. F. Sousa, A. J. Ribeiro, J. T. Coimbra, et al., *Curr. Med. Chem.* **20**, 2296 (2013).
17. Т. А. Бессонова, С. А. Шумейко, Ю. А. Пуртов и др., *Биофизика* **61** (6), 1059 (2016).
18. N. M. O'Boyle, M. Banck, C. A. James, et al., *J. Cheminformatics* **3**, 33 (2011).
19. M. D. Hanwell, D. E. Curtis, D. C. Lonie, et al., *J. Cheminformatics* **4** (1), 17 (2012).
20. M. Riley, T. Abe, M. B. Arnaud, et al., *Nucl. Acids Res.* **34** (1), 1 (2006).
21. A. Waterhouse, M. Bertoni, S. Bienert, et al., *Nucl. Acids Res.* **46** (W1), W296 (2018).
22. M. S. Little, S. J. Pellock, W. G. Walton, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **115**, E152 (2018).
23. N. Guex and M. C. Peitsch, *Electrophoresis* **18**, 2714 (1997).
24. M. S. Friedrichs, P. Eastman, V. Vaidyanathan, et al., *J. Comput. Chem.* **30**, 864 (2009).
25. O. Trott and A. J. Olson, *J. Comput. Chem.* **31**, 455 (2010).
26. G. M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom, *J. Comput. Chem.* **30**, 2785 (2009).

Contact Topology of Potential Ligands for the UxuR Transcription Factor of *Escherichia coli* as Revealed by Flexible Molecular Docking

Y.A. Purtov* **, M.N. Tutukina*, A.D. Nikulin**, and O.N. Ozoline*

**Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences,
ul. Institutskaya 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

***Institute of Protein Research, Russian Academy of Sciences,
ul. Institutskaya 4, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

UxuR is a transcription factor controlling the expression of genes involved in hexuronate utilization. Its ability to bind to the promoters of regulated genes is dependent on sugar ligands. Earlier, on the surface of the UxuR monomer two regions of the preferred interaction with D-glucuronate and D galacturonate were found, one of which was located in the interdomain linker connecting N- and C-terminal domains of the protein. A ligand binding in this region may change mutual orientation of the domains affecting UxuR interaction with DNA. The second binding region was located within the C-terminal domain pocket, with regulatory effect being realized either via the conformational changes in the domain, or via influence on the protein dimerization. Here, the 3D-model of the UxuR dimer was obtained and molecular docking of a range of sugars on its surface was performed. A platform for carbohydrate binding was found in the junction of the two C-terminal domains in the UxuR dimer. Another one, in the interdomain linker, was occupied by different sugars including those that were able to enter the C-terminal domain pockets from the side of interdomain surface. This potentially allows for transposition of a regulatory signal derived from the pocket loading into the conformation transition that changes mutual orientation of the domains.

Keywords: molecular docking, sugars, hexuronates, UxuR