



УДК 577.151.3;577.152.34

АТР-ЗАВИСИМЫЕ LonVA-ПРОТЕАЗЫ БАЦИЛЛ И КЛОСТРИДИЙ

© 2024 г. А. Г. Андрианова*, А. М. Куджаев*, И. В. Смирнов*, Т. В. Ротанова*,#

* ФГБУН “Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова” РАН,
Россия 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 10.02.2024 г.

После доработки 21.02.2024 г.

Принята к публикации 22.02.2024 г.

Семейство Lon-протеаз относится к ключевым пептидгидролазам системы контроля качества белков (СКК), которая играет ведущую роль в поддержании сохранности клеточного протеома во всех природных царствах. При этом Lon-протеазы – единственное семейство АТР-зависимых протеаз СКК, которое объединяет целый ряд структурно различных подсемейств. Недавно было выдвинуто предположение о наличии в семействе Lon ранее неклассифицированного подсемейства LonVA, включающего ферменты бактерий классов Bacilli и Clostridia. С помощью биоинформатического анализа получены данные об особенностях строения ферментов предполагаемого нового подсемейства и о существовании двух различающихся групп Lon-протеаз в этом подсемействе.

Ключевые слова: контроль качества клеточного протеома, AAA⁺-белки, АТР-зависимый протеолиз, Lon-протеазы, подсемейства, бациллы, клостридии

DOI: 10.31857/S0132342324050073, EDN: LRAAQY

ВВЕДЕНИЕ

Семейство АТР-зависимых Lon-протеаз – один из наиболее значимых участников системы контроля качества (СКК) белков, играющей ведущую роль в поддержании сохранности клеточного протеома во всех доменах жизни (бактерии, археи, эукариоты). В недавно опубликованном обзоре [1] была дана развернутая характеристика Lon-протеаз и представлены сведения о строении и структурных особенностях представителей этого семейства. Практически одновременно нами были обнаружены бактериальные пептидгидролазы, относящиеся к семейству Lon, но имеющие значительные отличия от известных к тому времени Lon-протеаз. Результаты изучения ферментативных свойств и получение данных об уникальной кристаллической структуре протеазного домена Lon-протеазы из *Bacillus subtilis*, модельной для выявленного блока ферментов, позволили выдвинуть предположение о существовании ранее

неидентифицированного подсемейства LonVA-протеаз [2].

Цель данной работы – общая характеристика строения представителей предполагаемого нового LonVA-подсемейства, а также выявление индивидуальных особенностей структуры ферментов бактерий и клостридий, составляющих это подсемейство, с помощью биоинформатического анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Подсемейства в семействе Lon-протеаз. В совокупности бифункциональных энергозависимых AAA⁺-протеаз, являющихся членами СКК, Lon-протеазы – это единственное семейство, которое состоит из ряда значительно различающихся подсемейств. Принятая в настоящее время классификация ферментов семейства Lon включает три основных подсемейства: LonA, LonB и LonC (рис. 1а) [1, 3–5]. В базе данных пептидгидролаз MEROPS

Сокращения: СКК – система контроля качества; AAA⁺ – АТРазы, ассоциированные с различными клеточными активностями.

Автор для связи: (тел.: +7 (495) 335-42-22; эл. почта: tatyana.rotanova@ibch.ru).

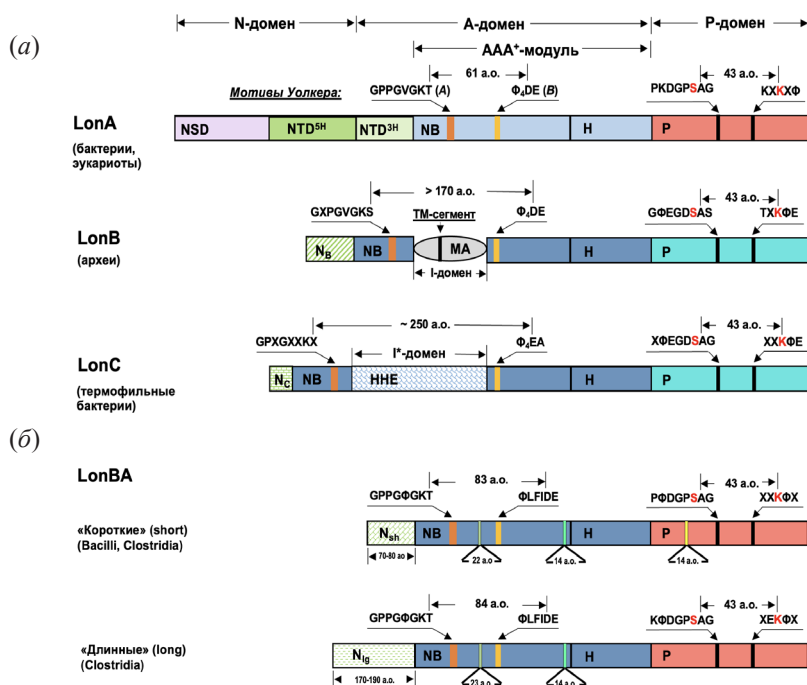


Рис. 1. Доменная организация и консенсусные элементы активных центров Lon-протеаз различных подсемейств. (а) – Lon-протеазы подсемейств А, В и С; (б) – Lon-протеазы подсемейства ВА. Субдомены NSD, NTD^{5H} и NTD^{3H} формируют *N*-концевую область LonA-протеаз. N_B, N_C, N_{sh} и N_{lg} – *N*-концевые фрагменты ферментов подсемейств В, С и ВА. Нуклеотид-связывающий (NB) и α -спирализованный (H) субдомены светло-голубого и синего цвета характеризуют AAA⁺-модули типов А и В соответственно. Мотивы Уолкера представляют АТРазный активный центр. I (МА, Membrane Anchoring) и I* (HNE, Helical Harpin Extension) – вставочные домены. Протеазные домены (P) кораллового цвета содержат активные центры А-типа, а бирюзового цвета – центры В-типа. Ф – остатки гидрофобных аминокислот, Х – остатки любых аминокислот. Каталитические остатки серина (S) и лизина (K) выделены красным цветом.

(<https://www.ebi.ac.uk/merops/>) [6] Lon-протеазы формируют семейство S16 клана SJ, разделенное на 25 идентификационных групп (ID). Каждое Lon-подсемейство объединяет представителей одной или нескольких ID-групп. При этом принадлежность той или иной Lon-протеазы к определенному подсемейству отражает не только различия их общей архитектуры, но и различия некоторых консенсусных элементов, а также природы источников ферментов. Так, Lon-протеазы, функционирующие в бактериях и эукариотах, образуют преобладающее подсемейство А (представители ID-групп S16.001, 002 и др.), ферменты подсемейства В (ID S16.005) – характеристические для архей, а немногочисленные LonC-протеазы (ID S16.007) обнаруживаются только в некоторых термофильных бактериях [1, 3–10].

Общей характеристикой для Lon-протеаз всех подсемейств служит локализация в центральной части их аминокислотных последовательностей АТРазного компонента (А-домен), а в С-концевой – пептидазного (серин-лизиновая пептидгидролаза,

Р-домен). Основные различия между членами подсемейств заключены в их *N*-концевых областях и во “вставочных” фрагментах (рис. 1а).

В Р-доменах ферментов семейства Lon выявлены два типа активных центров (А и В), которые различаются окружением остатков серина и лизина каталитической диады [11, 12]. При этом LonA-протеазы содержат центр типа А, а протеазы LonB и LonC – центры типа В (рис. 1а). Несмотря на отмеченные различия, кристаллические структуры Р-доменов ферментов разных подсемейств демонстрируют высокую степень топологического сходства [3, 13].

АТРазные А-домены Lon-протеаз состоят из характерных для белков AAA⁺-суперсемейства AAA⁺-модулей, сформированных нуклеотид-связывающими (NB или α/β) и α -спирализованными (H или α) субдоменами и дополнительными негомологичными фрагментами (рис. 1а) [14–16]. Последние либо локализованы в *N*-концевой части А-домена (NTD^{3H}-субдомен у LonA-протеаз [3]), либо внедрены как вставочные домены в

NB-субдомены ферментов (домены I (MA) и I* (NHE) у LonB- и LonC-протеаз соответственно [17]) (рис. 1а). LonA-протеазы включают также протяженный N-концевой домен (N), состоящий из двух субдоменов: NSD и NTD^{5H} (рис. 1а) [3]. Следует заметить, что субдомены NTD^{5H} и NTD^{3H} в целом составляют фрагмент со вставочным coiled-coil-участком, который в работах [1, 18] рассматривается как индивидуальный α -спирализованный домен (HI(CC)).

В последнее время в ID-группе S16.005 произошли значительные изменения, обусловленные включением в эту группу блока бактериальных ферментов неархейного происхождения. Источники вновь включенных ферментов – исключительно бактерии классов Bacilli и Clostridia, относящихся к отряду Firmicutes. При этом общее количество бактериальных ферментов (168) намного превосходит количество “классических” архейных LonB-протеаз (22) группы S16.005 [6].

Анализ первичных структур бациллярных ферментов группы S16.005 показал, что их протеазные активные центры однозначно представляют тип А, а не В (рис. 1б), что противоречит первоначально принятой классификации Lon-протеаз. Вместе с тем у этих ферментов отсутствует характерная для LonA-протеаз пролонгированная N-концевая область, а их AAA⁺-модули содержат олигопептидные вставки, локализованные, как и у LonB-протеаз, между консенсусными мотивами Уолкера А и В. Однако размеры этих вставок (суммарно 22–23 а.о.) значительно отличаются от размеров крупных вставочных трансмембранных доменов истинных архейных LonB-протеаз (рис. 1б). Сочетание в бациллярных ферментах ID-группы S16.005 отдельных признаков LonA- и LonB-протеаз послужило основанием для предложения о выведении их в индивидуальное “гибридное” подсемейство Lon с наименованием “LonVA-протеазы” [2].

Новое “гибридное” подсемейство LonVA-протеаз. Изучение первого модельного фермента предполагаемого нового подсемейства – LonVA-протеазы из *Bacillus subtilis* (BsLonVA, MER0002228) – показало, что его базовые ферментативные свойства значительно отличаются от свойств как LonA-, так и LonB-протеаз. Более того, кристаллическая структура протеазного домена BsLonVA оказалась уникальной для семейства Lon-протеаз [2]. Тем самым была подтверждена корректность выделения бактериальных ферментов группы S16.005 в отдельное подсемейство.

При анализе членов ID-группы S16.005, представленных в бактериях класса Clostridia, выяснилось, что наряду с ферментами, подобными LonVA-протеазам, обнаруженным в бациллах, клостридии содержат ферменты LonVA-типа, N-концевая область которых более чем в 2 раза превышает N-концевой фрагмент LonVA-протеаз бацилл. Это означает, что вновь выявленное подсемейство LonVA сформировано двумя группами ферментов, различающихся размерами N-концевых фрагментов. К одной группе (LonVA-sh) относятся ферменты с “короткими” (short) N-фрагментами (N-sh, 70–80 а.о.), а к другой (LonVA-lg) – с “длинными” (long) N-фрагментами (N-lg, 170–190 а.о.) (рис. 1б). При этом следует подчеркнуть, что ферменты группы LonVA-sh представлены и в бациллах, и в клостридиях, а группы LonVA-lg – только в клостридиях. Исследованная нами [2] первая модельная BsLonVA-протеаза – член группы LonVA-sh.

Для выявления содержания Lon-протеаз различных подсемейств в бактериальных источниках был проведен скрининг ферментов семейства Lon у 58 бацилл и 110 клостридий, представленных в ID-группе S16.005. Установлено, что для большинства бацилл характерно наличие одной LonA- и одной LonVA-sh-протеазы (исключение составляет *Bacillus cereus*, у которой обнаружены две LonA- и три LonVA-sh-протеазы). У клостридий набор Lon-протеаз значительно шире. Все они содержат LonVA-протеазы (LonVA-sh либо LonVA-lg или одновременно оба варианта), а также (в большинстве случаев) протеазы подсемейства LonA. Кроме того, более чем у половины клостридий обнаружены еще и LonC-подобные протеазы. Наибольшее количество различных Lon-протеаз (24) было выявлено у хорошо изученного организма *Clostridium botulinum* [6].

В противоположность фирмикутам практически все архейные источники ферментов ID-группы S16.005 содержат исключительно “классические” LonB-протеазы, и только у трех организмов из двадцати двух обнаружены также протеазы LonA. Нужно заметить, что в *E. coli* единственный Lon-фермент – EcLonA-протеаза – основная модель для всего семейства. Представленность Lon-протеаз различных подсемейств в бактериях отряда Firmicutes в сравнении с протеобактериями и археями отражена в табл. 1 на примере четырех организмов: *B. subtilis*, *C. botulinum*, *E. coli* и *Archaeoglobus fulgidus*.

Для оценки консервативности структурных фрагментов, формирующих LonVA-протеазы,

Таблица 1. Содержание Lon-протеаз различных подсемейств в бактериях *B. subtilis*, *C. botulinum*, *E. coli* и *A. fulgidus* по данным базы MEROPS

Семейство Lon S16		Бактерии						Археи	
тип протеолитического центра	подсемейство	Proteobacteria		Firmicutes				Euryarchaeota	
		ID	<i>E. coli</i>	Bacilli		Clostridia			
				ID	<i>B. subtilis</i>	ID	<i>C. botulinum</i>	ID	<i>A. fulgidus</i>
A	LonA	001	0000485*	001 UPW	0000487 1037043	001	0078975 0113785 0245086 0360567 0476087	–	
	LonBA	short	–	005 UPW	0002228* 1030684 1037433	005 UPW	0078974* 0245087* 0361555 0475702 0475680* 1032601	–	
		long	–	–	–	005	0078953* 0114077* 0245321* 0475665 0475690 0475693	–	
B	LonB	–	–	–	–	–	005	0003868	
	LonC-подобные	–	–	–	–	UPW	0079343 0114123 0245245 0472512 0472843 1030320 1035981	–	

Примечание: приведены номера ID-групп и индивидуальных ферментов (MERXXXXXXXX). Прочерк – отсутствие ферментов указанной группы.

* Последовательности, сопоставленные на рис. 2.

было проведено выравнивание трех наборов последовательностей (по шесть представителей LonBA-протеаз бацилл, коротких и длинных LonBA-протеаз кластридий), результаты которого суммированы в табл. 2. Установлено, что высшую степень подобия (>80%) проявляют нуклеотид-связывающие (NB) субдомены всех групп ферментов (строки 1, 2 и 4 в табл. 2). Высокая степень подобия сохраняется и при

“перекрестном” сопоставлении NB-субдоменов всех коротких ферментов независимо от класса бактерий (строка 3). Однако подобие между NB-субдоменами коротких и длинных LonBA-протеаз кластридий заметно ниже (<70%) (строка 5).

Неожиданно оказалось, что у α -спирализованных субдоменов (H) степени подобия невысоки (~50%), и они еще больше снижаются в перекрестных группах (до 38 и 29%) (строки 1–5).

Таблица 2. Степени подобия фрагментов последовательностей “коротких” и “длинных” LonVA-протеаз бацилл и клостридий

№	Источники ферментов		Фрагменты ферментов							
	организмы	количество ферментов	N-концевой фрагмент		NB-субдомен		H-субдомен		P-домен	
			размер, а.о.	подобие, %	размер, а.о.	подобие, %	размер, а.о.	подобие, %	размер, а.о.	подобие, %
LonBAs-short										
1	Bacilli	6	73	67.1	190	89.5	92	51.1	185	66.5
2	Clostridia	6	80	46.3	190	86.3	90	55.6	184	63.0
3	Bacilli/Clostridia	12	80	35.0	190	81.6	92	38.0	185	53.0
LonBAs-long										
4	Clostridia	6	183	41.6	190	83.8	97	56.7	169	72.8
LonBAs-(short/long)										
5	Clostridia	12	80	17.5	191	67.5	97	28.9	185	42.2
EcLonA*/LonBAs (bac-clos)										
6	LonA/bac-LonBA	7	н.о.**	н.о.	201	41.8	118	21.2	195	41.5
7	LonA/clos-LonBA-sh	7	н.о.	н.о.	192	39.6	149	20.8	194	46.4
8	LonA/clos-LonBA-Ig	7	н.о.	н.о.	203	42.4	123	23.6	180	52.2

Примечание: источники ферментов – класс Bacilli (LonBAs-short): *B. subtilis* (MER0002228), *Alicyclobacillus acidocaldarius* (MER0127779), *B. cereus* (MER0029009), *Brevibacillus brevis* (MER0166780), *Paenibacillus lactis* (MER0361527), *Sporolactobacillus inulinus* (MER0361592); класс Clostridia (LonBAs-short/long): *C. botulinum* (MER0078974/MER0078953), *C. cellulovorans* (MER0222493/MER0361471), *C. saccharoperbutylacetonicum* (MER0357376/MER0356900), *Desulfosporosinus acidiphilus* (MER0361501/MER0361560), *Syntrophomonas wolfei* (MER0080698/MER0051945), *Thermosinus carboxydvorans* (MER0088465/MER0088447).

* EcLonA – LonA-протеаза из *E. coli* (MER0000485).

** н.о. – не определяли.

Можно предположить, что значительная разница между субдоменами NB и H по консервативности может негативно отразиться на функциональной активности AAA⁺-модулей, которые они формируют. Относительно невысокое подобие демонстрируют также группы N-концевых фрагментов (особенно в своих перекрестных вариантах) (табл. 2).

Кардинальное различие между P-доменами коротких и длинных LonVA-протеаз было выявлено при выравнивании полноразмерных последовательностей этих групп ферментов. Оказалось, что в длинных LonVA-протеазах отсутствует фрагмент, соответствующий 14-членной β-структурированной вставке, обнаруженной в бациллярных LonVA-протеазах, наличие которой определяет уникальность укладки их P-доменов [2]. Видимо, это служит основной причиной невысокого подобия (~40%) доменов коротких и длинных LonVA-протеаз клостридий (табл. 2, строка 5).

На рис. 2 представлено сопоставление последовательностей BsLonVA, а также трех коротких и трех длинных LonVA-протеаз *C. botulinum* с последовательностью модельной EcLonA-протеазы, выполненное с учетом известных данных по 3D-структурам EcLonA и BsLonVA. При этом в отношении BsLonVA были использованы экспериментально определенная кристаллическая структура P-домена и предсказанная структура A-фрагмента этого фермента [2]. Вторичная структура CbLonVA-Ig1 – одной из длинных LonVA-протеаз *C. botulinum* – предсказана с помощью программы PSSpred (<https://zhanggroup.org/PSSpred/>).

Как следует из рис. 2, вторичная структура CbLonVA-Ig1 в целом соответствует структуре BsLonVA. При этом N-концевой фрагмент CbLonVA-Ig1, предшествующий AAA⁺-модулю фермента, как и в случае BsLonVA и EcLonA, состоит из ряда крупных α-спиралей. Однако значительного подобия между этими

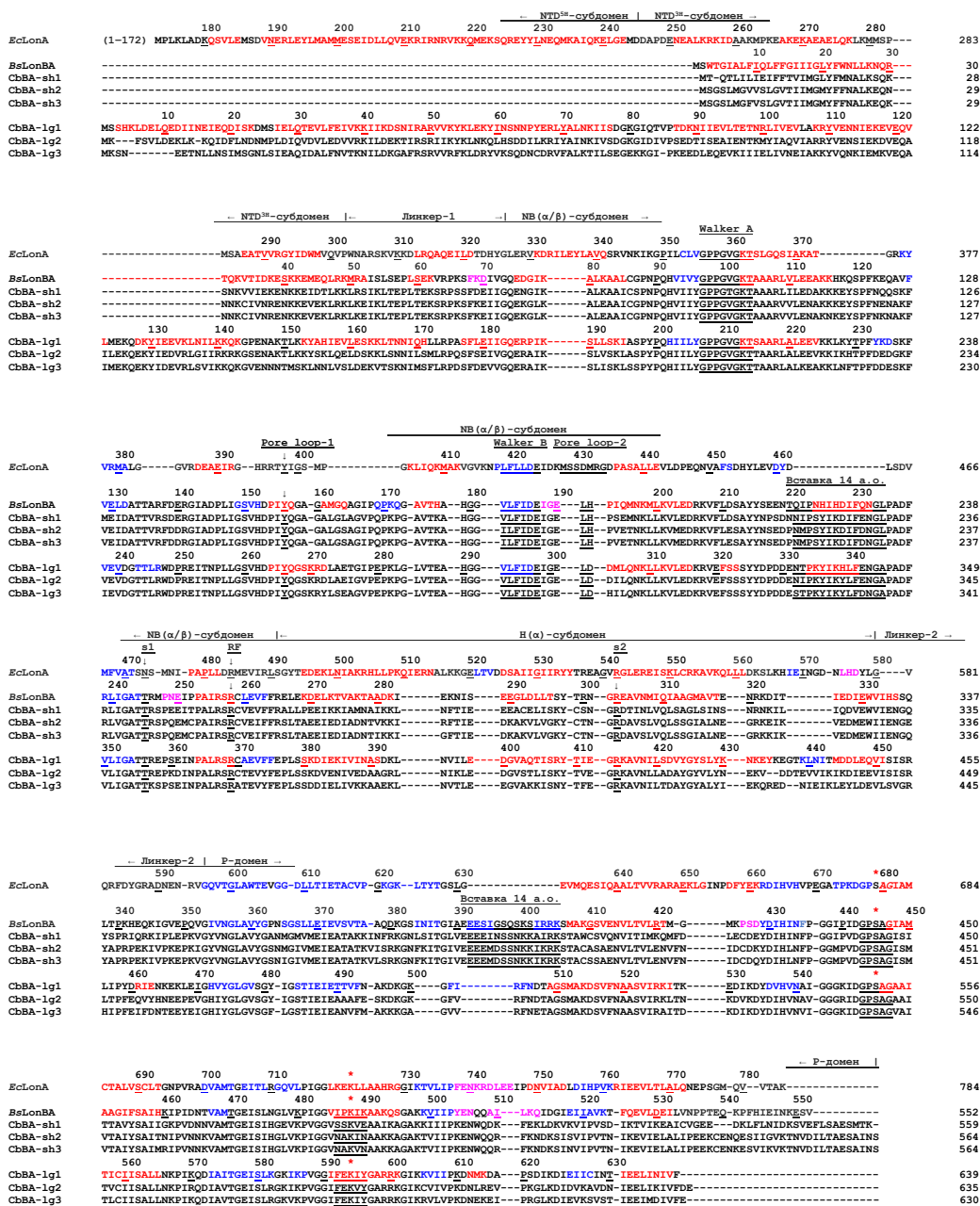


Рис. 2. Сопоставление последовательностей LonBA-протеаз из *Bacillus subtilis* и *Clostridium botulinum* с последовательностью модельной LonA-протеазы из *Escherichia coli* с учетом структурных данных, полученных для EcLonA и BsLonBA [2]. Источники Lon-протеаз: *E. coli* – EcLonA (MER0000485, PDB: 1RRE, 1RR9, 6U5Z); *B. subtilis* – BsLonBA (MER0002228, PDB: 8DVH); *C. botulinum* – CbBA-sh1 (MER0078974), CbBA-sh2 (MER0245087), CbBA-sh3 (MER0475680), CbBA-lg1 (MER0078953), CbBA-lg2 (MER0245321), CbBA-lg3 (MER0114077). Пометки “sh” и “lg” означают “короткие” и “длинные” LonBA-протеазы соответственно. Указана нумерация аминокислотных остатков для последовательностей EcLonA, BsLonBA и CbLonBA-lg1. Выравнивание первичных структур проведено с помощью программы <https://www.ebi.ac.uk/jdispatcher/msa/clustalo>. Для EcLonA и BsLonBA элементы вторичных структур представлены согласно данным работы Gustchina et al. [2], а для CbLonBA-lg1 – согласно предсказанию (<https://zhanggroup.org/PSSpred/>). Красным цветом показаны α-спирали, розовым – 3₁₀-спирали, синим – β-тяжи, черным – фрагменты, не включенные в элементы вторичной структуры. Подчеркнуты консенсусные элементы: мотивы Уолкера (Walker A и Walker B), ключевые остатки Y и LH/D петель Pore loop-1 и Pore loop-2 соответственно, остатки сенсор-1 и сенсор-2 (s1 и s2), “аргининовый палец” (RF), окружение каталитических остатков серина (S*) и лизина (K*). В последовательностях всех LonBA-протеаз подчеркнуты вставочные 14-членные фрагменты NB-субдоменов, а в коротких LonBA-протеазах – 14-членные фрагменты, соответствующие участку (E³⁹²-K⁴⁰⁵) BsLonBA, формирующему уникальный вставочный β-бочокон в структуре Р-домена.

фрагментами не обнаружено. Кроме того, в *N*-концевой последовательности *CbLonVA-Ig1* не выявлено ни coiled-coil-участка (как $M^{173}-M^{280}$ у *EcLonA*), ни трансмембранного сегмента (как S^2-L^{26} у *BsLonVA*). Наиболее выраженное сходство обнаруживают протяженные α -спирали, локализованные в фрагментах $D^{188}-D^{245}$ *EcLonA*-протеазы и $D^{24}-G^{81}$ *CbLonVA-Ig1*, где степень подобия составляет 53.8%, а консервативность аминокислотных остатков – 18.5%.

Нуклеотид-связывающие и α -спирализованные субдомены LonVA-протеаз и бацилл, и клостридий, формирующие AAA⁺-модули ферментов, демонстрируют заметное и примерно равное подобие с соответствующими фрагментами *EcLonA*-протеазы (~40% для NB-субдоменов и 20% для H-субдоменов) (табл. 2, строки 6–8). Надо полагать, что низкое сходство AAA⁺-модулей *EcLonA* и LonVA-протеаз в большой степени обусловлено разницей размеров сопоставляемых субдоменов. Так, NB-субдомены LonVA-протеаз значительно крупнее NB-субдомена *EcLonA*, поскольку кроме вставочных фрагментов, заключенных между мотивами Уолкера (суммарно 22 или 23 а.о.), они имеют также вставки по 14 а.о. в своих *C*-концевых областях (рис. 2). H-Субдомены LonVA-протеаз, напротив, короче H-субдомена *EcLonA* на 16–23 а.о. (рис. 2). Отмеченные различия могут отразиться на пространственных структурах ферментов вновь выявленного LonVA-подсемейства.

Подобие Р-доменов *EcLonA* и LonVA-протеаз тоже невелико (табл. 2, строки 6–8). Но надо подчеркнуть, что в этом случае, как и следовало ожидать, большее сходство обнаружено между Р-доменами *EcLonA* и длинных LonVAs, не имеющих уникальной β -структурированной вставки, характерной для коротких LonVA-протеаз (рис. 2).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Аминокислотные последовательности анализируемых протеаз получали из баз данных MEROPS (<https://www.ebi.ac.uk/merops/>) и UniProt Knowledgebase (<https://www.uniprot.org/>).

Для предсказания вторичных структур белков использовали серверы PSSpred (<https://zhanggroup.org/PSSpred/>), Jpred 4 (<https://www.compbio.dundee.ac.uk/jpred4/index.html>) и Porter 5.0 (<https://distilldeep.ucd.ie/porter/>).

Поиск трансмембранных фрагментов проводили с помощью серверов SMART (<https://smart.embl->

[heidelberg.de/smart/set_mode.cgi?NORMAL=1](https://www.heidelberg.de/smart/set_mode.cgi?NORMAL=1)), ТМНММ-2.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>) и НММТОР (<https://www.enzim.hu/hmmtop/html/submit.html>).

Наличие coiled-coil-областей в белках выявляли с использованием серверов CoCoPRED (<https://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/CoCoPRED/>), Prabi coiled-coil prediction (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_lupas.html) и Waggawagga coiled-coil prediction (<https://waggawagga.motorprotein.de/>).

Для выравнивания последовательностей использовали сервер <https://www.ebi.ac.uk/jdispatcher/msa/clustalo>.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено биоинформатическое исследование недавно выявленной в семействе Lon-протеаз группы ферментов из бацилл и клостридий, которые в базе данных MEROPS оказались отнесенными к подсемейству LonB. Охарактеризовано как общее строение вновь выявленных ферментов, так и индивидуальные особенности их структуры. Установлено, что существенные структурные отличия этих протеаз от ранее изученных ферментов Lon-семейства не позволяют в полной мере отнести их ни к одному из трех известных классических подсемейств, а скорее свидетельствуют об обнаружении отдельного четвертого подсемейства “гибридных” LonVA-протеаз.

Показано, что новое подсемейство LonVA состоит из двух сообществ ферментов, различающихся строением своих *N*-концевых фрагментов и протеазных доменов. Обнаружение в различных организмах бактерий отдела Firmicutes, к которому принадлежат бациллы и клостридии, большого разнообразия АТР-зависимых Lon-протеаз, не относящихся к “классическим” LonA-ферментам, позволяет предположить наличие у представителей во многом все еще загадочного семейства Lon новых невыявленных функций, которые требуют дальнейшего глубокого исследования.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 21-74-20154).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей и использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kudzhaev A.M., Andrianova A.G., Gustchina A.E., Smirnov I.V., Rotanova T.V. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2022. V. 48. P. 678–709.
<https://doi.org/10.1134/s1068162022040136>
2. Gustchina A., Li M., Andrianova A.G., Kudzhaev A.M., Lountos G.T., Sekula B., Cherry S., Tropea J.E., Smirnov I.V., Wlodawer A., Rotanova T.V. // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23. P. 11425.
<https://doi.org/10.3390/ijms231911425>
3. Wlodawer A., Sekula B., Gustchina A., Rotanova T.V. // J. Mol. Biol. 2022. V. 434. P. 167504.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2022.167504>
4. Liao J.H., Kuo C.I., Huang Y.Y., Lin Y.C., Lin Y.C., Yang C.Y., Wu W.L., Chang W.H., Liaw Y.C., Lin L.H., Chang C.I., Wu S.H. // PLoS One. 2012. V. 7. P. e40226.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040226>
5. Sauer R.T., Baker T.A. // Ann. Rev. Biochem. 2011. V. 80. P. 587–612.
<https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060408-172623>
6. Rawlings N.D., Barrett A.J., Thomas P.D., Huang X., Bateman A., Finn R.D. // Nucleic Acids Res. 2018. V. 46. P. 624–632.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkx1134>
7. Gottesman S. // Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 2003. V. 19. P. 565–587.
<https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.19.110701.153228>
8. Pei J., Yan J., Jiang Y. // Hindawi Publishing Corporation. Archaea. 2016. Article ID 5759765.
<https://doi.org/10.1155/2016/5759765>
9. Cerletti M., Paggi R.A., Guevara C.R., Poetsch A., De Castro R.E. // J. Proteomics. 2015. V. 121. P. 1–14.
<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.03.016>
10. Maehara T., Hoshino T., Nakamura A. // Extremophiles. 2008. V. 12. P. 285–296.
<https://doi.org/10.1007/s00792-007-0129-3>
11. Rotanova T.V., Melnikov E.E., Tsirulnikov K.B. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2003. V. 29. P. 85–87.
12. Rotanova T.V., Melnikov E.E., Khalatova A.G., Makhovskaya O.V., Botos I., Wlodawer A., Gustchina A. // Eur. J. Biochem. 2004. V. 271. P. 4865–4871.
<https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.2004.04452.x>
13. Rotanova T.V., Botos I., Melnikov E.E., Rasulova F., Gustchina A., Maurizi M.R., Wlodawer A. // Protein Sci. 2006. V. 15. P. 1815–1828.
<https://doi.org/10.1110/ps.052069306>
14. Iyer L.M., Leipe D.D., Koonin E.V., Aravind L. // J. Struct. Biol. 2004. V. 146. P. 11–31.
<https://doi.org/10.1016/j.jsb.2003.10.010>
15. Lupas A.N., Martin J. // Curr. Opin. Struct. Biol. 2002. V. 12. P. 746–753.
[https://doi.org/10.1016/s0959-440x\(02\)00388-3](https://doi.org/10.1016/s0959-440x(02)00388-3)
16. Bittner L.M., Arends J., Narberhaus F. // Biopolymers. 2016. V. 105. P. 505–517.
<https://doi.org/10.1002/bip.22831>
17. Liao J.H., Ihara K., Kuo C.I., Huang K.F., Wakatsuki S., Wu S.H., Chang C.I. // Acta Cryst. 2013. V. 69. P. 1395–1402.
<https://doi.org/10.1107/S0907444913008214>
18. Rotanova T.V., Andrianova A.G., Kudzhaev A.M., Li M., Botos I., Wlodawer A., Gustchina A. // FEBS Open Bio. 2019. V. 9. P. 1536–1551.
<https://doi.org/10.1002/2211-5463.12691>

ATP-Dependent LonBA Proteases of Bacilli and Clostridia

A. G. Andrianova*, A. M. Kudzhaev*, I. V. Smirnov*, and T. V. Rotanova*,#

Phone: +7 (495) 335-42-22; e-mail: tatyana.rotanova@ibch.ru

* Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
ul. Mikluho-Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia

The Lon protease family belongs to the key peptide hydrolases of the protein quality control (PQC) system, which plays a leading role in maintaining the integrity of the cellular proteome in all natural kingdoms. Moreover, Lon proteases are the only family of ATP-dependent proteases of PQC which comprises a number of structurally distinct subfamilies. Recently, it has been suggested that the Lon family contains a previously unclassified LonBA subfamily, which includes enzymes from bacteria of the Bacilli and Clostridia classes. Using bioinformatics analysis, data were obtained on the structural features of enzymes of the putative new subfamily and on the existence of two different groups of Lon proteases in this subfamily.

Keywords: protein quality control system, AAA⁺ proteins, ATP-dependent proteolysis, Lon proteases, subfamilies, Bacilli, Clostridia