

УДК 577.152.342*1'134

©Т.В. Ротанова

**ПЕПТИДГИДРОЛАЗЫ С КАТАЛИТИЧЕСКОЙ ДИАДОЙ SER - LYS.
СХОДСТВО И РАЗЛИЧИЯ АКТИВНЫХ ЦЕНТРОВ АТР-ЗАВИСИМЫХ
Lon-ПРОТЕИНАЗ, РЕПРЕССОРОВ LexA, СИГНАЛЬНЫХ ПЕПТИДАЗ И
ПРОТЕИНАЗ С-КОНЦЕВОГО ПРОЦЕССИНГА**

Т.В. Ротанова

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997 ГСП, Москва, В-437, ул. Миклухо-Маклая, 16/10;
тел.: 335-4222; эл. почта: rotanova@enzyme.siohc.ras.ru

Установлено, что ранее неклассифицированное семейство АТР-зависимых Lon-протеиназ относится к клану серин-лизиновых пептидгидролаз. При сопоставлении первичных структур семейства Lon-протеиназы и ферментов других семейств, в активных центрах которых функционирует каталитическая диада Ser - Lys, обнаружено значительное сходство между аминокислотными последовательностями Lon-протеиназ и репрессоров LexA в областях, включающих каталитически активные остатки серина и лизина. Показано, что семейства Lon и LexA подразделяются на два подсемейства каждое в зависимости от природы аминокислот в окружении каталитически активного серина. Выявлены потенциальные области связывания ДНК в протеолитических доменах Lon-протеиназ подсемейства А. Обсуждается сходство и различия пептидгидролаз всех семейств клана в областях их активных центров, сформированных фрагментами аминокислотных последовательностей, окружающими каталитические остатки.

Ключевые слова: каталитическая диада Ser-Lys, АТР-зависимая протеиназа Lon, репрессоры LexA, подсемейства, сигнальные пептидазы, "tail"-специфические протеиназы, пептидазы С-концевого процессинга.

Lon-протеиназа - один из ключевых ферментов внутриклеточного селективного протеолиза, посредством которого осуществляется контроль качества белков и поддерживается клеточный гомеостаз [1-3]. В клетках прокариот Lon-протеиназа локализована в цитозоле, а в клетках эукариот - в митохондриях. Как и другие известные к настоящему времени АТР-зависимые ферменты и ферментные системы внутриклеточного протеолиза (протеиназы FtsH, ClpAP, ClpXP и HslVU прокариот, а также 20S и 26S протеасомы эукариот, см. ссылки в обзорах [1, 4-6]) Lon-протеиназа принадлежит к суперсемейству AAA-белков (АТРаз, ассоциированных с другими клеточными активностями) [7-11]. Кроме селективного протеолиза AAA-белки вовлечены во множество других клеточных процессов, включая регуляцию клеточного цикла, транспорт белков, опосредованный везикулами, биогенез органелл, перегруппировку микротрубочек и т.д. АТРазные составляющие AAA-белков - это так называемые AAA-модули из 220-250 аминокислотных остатков, которые содержат три консервативных фрагмента последовательности: мотивы Уолкера А и В и фрагмент, обозначаемый как "вторая область гомологии" (SRH-фрагмент) [12]. AAA-Белок может

ПЕПТИДГИДРОЛАЗЫ С КАТАЛИТИЧЕСКОЙ ДИАДОЙ SER - LYS

содержать один или несколько AAA-модулей, функционирующих либо как домены в единой полипептидной цепи, либо как индивидуальные субъединицы. Именно AAA-модули производят селективный отбор мишеней и регулируют активность функциональных компонентов AAA-белков [1].

АТР-зависимые протеиназы - олигомерные ферменты. Их протеолитические компоненты представляют собой домены (в гомоолигомерных протеиназах Lon и FtsH) или субъединицы (в гетероолигомерных протеиназах ClpAP, ClpXP и HslVU и в мультикалалитических комплексах - протеасомах). Протеолитические компоненты АТР-зависимых протеиназ различаются и по типу их активных центров: в ClpP-субъединице протеиназ ClpAP и ClpXP функционирует классическая триада сериновых протеиназ Ser - His - Asp [13], FtsH является Zn-зависимой металлопротеиназой [14], а каталитическими остатками субъединицы HslV в HslVU-протеиназе и β-субъединиц в протеолитическом ядре протеасом служат N-концевые остатки треонина [15,16].

Относительно типа активного центра Lon-протеиназы (КФ 3.4.21.53; MEROPS, клан SX; ID: S16.001) до последнего времени сохранялась неопределенность, несмотря на то, что принадлежность фермента к группе сериновых гидролаз была доказана ранее ингибиторным анализом [17] и сайт-направленным мутагенезом [18]. Классическая триада в каталитическом центре не была обнаружена, а ряд косвенных признаков свидетельствовал о возможности функционирования в активном центре Lon-протеиназы каталитической диады Ser - Lys [19, 20].

Сопоставление первичных структур аналогов Lon-протеиназы *E. coli* (более 60 представителей), имеющих в настоящее время в белковых базах данных, позволило выявить два подсемейства Lon-протеиназ (А и В) [21], которые различаются строением консервативных фрагментов последовательностей, включающих каталитически активный остаток серина (фрагмент I, табл. 1). В центральном тетрапептиде Gly-Хaa-Ser*-Ala (где Хaa - Pro для Lon А и Asp для Lon В) локализованы три общих для обоих подсемейств аминокислотных остатка. Замена пяти консервативных для подсемейства А остатков, локализованных в положениях -10, -8, -4, -3 и +2 относительно каталитически активного остатка серина (положения (-10)Ser*, (-8)Ser*, (-4)Ser*, (-3)Ser* и (+2)Ser* соответственно), на остатки, не обнаруживающие строгой консервативности (табл. 1), и появление дополнительного отрицательного заряда в положении (-1)Ser* (замена Pro → Asp) в ферментах подсемейства В позволили предположить различие пространственных структур Lon-протеиназ подсемейств А и В в области их каталитических центров [21].

Таблица 1. Консервативные фрагменты аминокислотных последовательностей Lon-протеиназ подсемейств А и В, включающие каталитически активные остатки серина и лизина (нумерация по последовательности Lon-протеиназы *E. coli* [20]).

Подсемейство	Номера аминокислотных остатков																			
	Фрагмент I										Фрагмент II									
	669	670	671	672	673	674	675	676	677	678	679*	680	681	682	719	720	721	722	723	724
	-10	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1		+1	+2	+3	+40	+41	+42	+43*	+44	+45
А	P	X	G	A/G,S	Ф	P/S	K	D	G	P	S	A	G	Ф	Ф	K/R	E/X	K	Ф/X	Ф/X
В	Ф	Q/G	X	Y/G	X	X	Ф	E/D	G	D	S	A	S/T	Ф	V/L	T/N	X	K	Ф	E

Примечания: * - каталитически активные остатки; F - остатки гидрофобных аминокислот; X - остатки любых аминокислот; жирным шрифтом выделены абсолютно консервативные остатки; курсивом - остатки, консервативность которых превышает 90 %.

На основании сопоставления первичных структур аналогов Lon-протеиназы *E. coli* также было показано, что протеолитические домены ферментов не содержат полностью консервативных для всех без исключения Lon-протеиназ остатков гистидина и аспарагиновой кислоты [21], то есть было получено обоснование невозможности функционирования классической каталитической триады (Ser - His - Asp) в Lon-протеиназах. В то же время во всех Lon-протеиназах обоих подсемейств обнаружен строго консервативный остаток лизина, локализованный на расстоянии 43 а.о. от каталитически активного серина в сторону С-конца

(положение (+43)Ser*) в последовательностях ферментов (фрагмент II, табл. 1). Общим для обоих подсемейств является наличие гидрофобных остатков в положениях -3 и +1 относительно консервативного остатка лизина (табл. 1).

Сайт-направленный мутагенез потенциально каталитически активного остатка Lys722 в молекуле Lon-протеиназы *E. coli* привел к получению мутантной формы Lon-K722Q, полностью утратившей протеолитическую и пептидазную активность, но сохранившей АТФазную активность. Эти результаты в совокупности с данными о консервативном взаиморасположении остатков серина и лизина в общем пуле Lon-протеиназ послужили доказательством функционирования каталитической диады Ser - Lys в активных центрах этих ферментов [21].

Следует отметить, что каталитическая диада Ser652 - Lys692 была обнаружена также в весьма далеком аналоге Lon-протеиназы *E. coli* - "неканонической" вирусной Lon-протеиназе, лишенной АТФазного домена [22]. Строение фрагментов аминокислотной последовательности вирусной Lon-протеиназы K⁶⁴²DPIPIVGNS*GNL⁶⁵⁵ и R⁶⁸⁹STK*LA⁶⁹⁴, включающих каталитические остатки, не позволяет сделать строгое отнесение фермента к какому-либо подсемейству Lon-протеиназ (ср. с табл. 1). Вместе с тем локализация остатка глицина (абсолютно консервативный для семейства Lon) в положении (-2)Ser*, остатка пролина в положении (-5)Ser*, а также гидрофобных остатков в положениях (-7, -4, +3)Ser* и (+1, +2)Lys* согласуется с локализацией подобных остатков в протеиназах Lon.

Группа ферментов с каталитической диадой Ser - Lys сформировалась сравнительно недавно [23]. До последнего времени к ней относились только репрессоры LexA (КФ 3.4.21.88; MEROPS ID: S24.001), сигнальные пептидазы (КФ 3.4.21.89; MEROPS ID: S26.001-003, 26.010) и два семейства пептидаз (Tsp и Ctp), осуществляющих С-концевой процессинг (MEROPS ID: S41.001-003). По классификации MEROPS пептидгидролазы с серин-лизиновой диадой составляют клан SF. Одним из наиболее представительных семейств в этом клане являются LexA репрессоры [24].

LexA (197-239 а.о.) состоит из двух структурно-функциональных доменов: в N-концевых доменах локализованы центры связывания ДНК, С-концевые домены выполняют протеолитическую функцию и ответственны за димеризацию репрессоров.

Ферментативная функция LexA заключается в осуществлении внутримолекулярной реакции аутопроцессинга с расщеплением связи Ala-Gly в петле между N- и С-доменами в центральной части молекулы (связь Ala84-Gly85 в последовательности LexA из *E. coli*). Гидролиз LexA происходит на одной из ранних стадий индукции SOS ответа на повреждение ДНК или ингибирование ее репликации. Эти процессы приводят к образованию одонитевой ДНК, активирующей фактор RecA, который, в свою очередь, влияет на аутопроцессинг LexA как ко-протеиназа. Гидролиз LexA инактивирует его репрессорную функцию, в связи с чем возрастает уровень LexA-контролируемых генов, которые участвуют в процессах, обеспечивающих выживание клетки [24].

В настоящее время в банке данных SwissProt представлены первичные структуры 23-х LexA репрессоров. Сопоставление фрагментов их аминокислотных последовательностей, включающих каталитически активные остатки серина и лизина (табл. 2), позволяет, как и в случае Lon-протеиназ, выявить два подсемейства LexA (I и II). Основные различия между подсемействами заключаются в природе аминокислот, локализованных в непосредственной близости от каталитически активных остатков (табл. 3): в положениях (-1)Ser*, (+2)Ser* и (+1)Lys*. Строго консервативными для обоих подсемейств LexA являются остатки Leu(-6), Gly(-2), Met(+1) и Asp(+1C) в окружении активного серина и Thr(-2) вблизи активного лизина (табл. 2). Кроме того, положения (-3 и -1)Lys* во всех LexA репрессорах заняты гидрофобными аминокислотами. Следует отметить, что в подсемействе LexA I расстояние между каталитически активными остатками строго постоянно (37 а.о.). Такое же

Таблица 2. Фрагменты аминокислотных последовательностей LexA репрессоров подсемейств I и II, включающие каталитически активные остатки серина и лизина

Источник	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	*	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7	+8	+9	+10	+11	-3	-2	-1	*	+1	+2	Ser №	Lys №
LexA I																													
<i>E.coli</i>	D	F	L	L	R	V	S	G	M	S	M	K	D	I	G	I	M	D	G	D	L	V	T	V	K	R	L	119	156
<i>Sal.typh.</i>	D	F	L	L	R	V	S	G	M	S	M	K	D	I	G	I	M	D	G	D	L	V	T	V	K	R	L	119	156
<i>Erw.car.</i>	D	F	L	L	R	V	S	G	M	S	M	K	N	I	G	I	M	D	G	D	L	V	T	V	K	R	L	119	156
<i>Aer.hyd.</i>	D	F	L	L	R	V	Q	G	M	S	M	K	N	I	G	I	L	D	G	D	L	V	T	V	K	R	F	124	161
<i>Pr.ret.</i>	D	F	L	L	R	V	N	G	M	S	M	K	D	I	G	I	M	D	G	D	L	V	T	V	K	R	F	122	159
<i>Ps.aer.</i>	D	Y	L	L	R	V	R	G	M	S	M	K	D	I	G	I	L	D	G	D	L	V	T	V	K	R	F	125	162
<i>Rh.sph.</i>	D	Y	L	L	R	V	H	G	M	S	M	K	D	V	G	I	F	D	G	D	L	V	T	V	K	R	F	123	160
<i>Hae.inf.</i>	D	F	L	L	K	V	Y	G	L	S	M	K	N	V	G	I	L	D	G	D	L	V	T	V	K	R	L	123	160
<i>Pas.mul.</i>	N	F	L	L	K	V	Y	G	Q	S	M	K	N	I	G	I	L	D	G	D	L	V	T	V	K	R	L	127	164
LexA II																													
<i>Myc.tub.</i>	L	F	L	L	K	V	I	G	D	S	M	V	E	A	A	I	C	D	G	D	W	A	T	V	K	F	K	141	178
<i>Myc.lep.</i>	L	F	L	L	K	V	T	G	D	S	M	V	E	A	A	I	C	D	G	D	W	A	T	V	K	F	K	141	178
<i>Str.coel.</i>	L	F	V	L	K	V	V	G	D	S	M	I	E	A	A	I	C	D	G	D	W	A	T	V	K	R	F	158	195
<i>Str.clav.</i>	L	F	V	L	K	V	V	G	D	S	M	I	E	A	A	I	C	D	G	D	W	A	T	V	K	R	F	163	200
<i>Bac.hal.</i>	T	Y	A	L	R	I	Q	G	D	S	M	I	E	A	G	I	F	D	G	D	L	A	T	V	K	R	F	129	167
<i>Xyl.fast.</i>	D	Y	L	L	R	V	Q	G	D	S	M	R	D	E	G	I	F	D	G	D	L	I	T	V	K	L	L	131	168
<i>Xan.ax.</i>	D	Y	L	L	K	V	Q	G	D	S	M	R	D	E	G	I	F	N	G	D	L	I	T	V	K	L	L	133	170
<i>Ps.put.</i>	H	Y	A	L	E	V	K	G	D	S	M	I	A	A	G	I	N	D	G	D	L	A	T	V	K	R	Y	149	187
<i>St.aur.</i>	I	F	I	L	N	V	V	G	D	S	M	I	E	A	G	I	L	D	G	D	K	A	T	V	K	R	F	130	168
<i>Bac.sub.</i>	V	F	M	L	E	I	M	G	D	S	M	I	D	A	G	I	L	D	K	D	Y	A	T	V	K	R	F	127	165
<i>Dei.rad.</i>	D	F	L	L	R	V	R	G	E	S	M	I	G	I	G	V	M	D	G	D	Y	A	T	L	K	R	L	120	159
<i>Vibr.ch.</i>	D	F	L	L	R	V	H	G	E	S	M	K	N	I	G	I	L	D	G	D	L	V	T	V	K	R	L	126	163
<i>The.nea.</i>	H	F	L	L	R	V	K	G	E	S	M	I	E	E	H	I	C	D	G	D	L	V	T	L	K	K	F	119	156
<i>The.mar.</i>	H	F	L	L	K	V	K	G	E	S	M	I	E	E	H	I	C	D	G	D	L	V	T	L	K	K	F	119	156

Сокращения: *E.coli* – *Escherichia coli*, *Sal.typh.* – *Salmonella typhimurium*, *Erw.car.* – *Erwinia carotovora*, *Aer.hyd.* – *Aeromonas hydrophila*, *Pr.ret.* – *Providencia rettgeri*, *Ps.aer.* – *Pseudomonas aeruginosa*, *Rh.sph.* – *Rhodobacter sphaeroides*, *Hae.inf.* – *Haemophilus influenzae*, *Pas.mul.* – *Pasteurella multocida*, *Myc.tub.* – *Mycobacterium tuberculosis*, *Myc.lep.* – *Mycobacterium leprae*, *Str.coel.* – *Streptomyces coelicolor*, *Str.clav.* – *Streptomyces clavuligenus*, *Bac.hal.* – *Bacillus halodurans*, *Xyl.fast.* – *Xylella fastidiosa*, *Xan.ax.* – *Xanthomonas axonopodis*, *Ps.put.* – *Pseudomonas putida*, *St.aur.* – *Staphylococcus aureus*, *Bac.sub.* – *Bacillus subtilis*, *Dei.rad.* – *Deinococcus radiodurans*, *Vibr.ch.* – *Vibrio cholerae*, *The.nea.* – *Thermotoga neapolitana*, *The.mar.* – *Thermotoga maritima*, Ser№ и Lys№ – номера каталитически активных остатков.

расстояние характерно для большинства представителей подсемейства LexA II, однако в четырех случаях это расстояние включает 38 а.о., а для репрессора из *Deinococcus radiodurans* - 39 а.о. (подчеркнуты в табл. 2).

При сравнении данных таблиц 1 и 3 обнаруживается выраженное сходство консервативных элементов первичных структур пар Lon A и LexA I, с одной стороны, и Lon B и LexA II, с другой (табл. 4). В первой паре (-1)Ser*-положение занято остатками пролина (Lon A) или гидрофобной аминокислоты (LexA I); кроме того, в рассматриваемых фрагментах локализовано несколько положительно заряженных аминокислот (положения (-4)Ser* и (-2)Lys* в Lon A и (-5)Ser*, (+2)Ser* и (+1)Lys* в LexA I). Во второй паре отсутствуют положительно заряженные кислоты вблизи каталитических остатков, в то же время в положении (-1)Ser* локализована дикарбоновая кислота. Общим для обеих пар подсемейств является наличие строго консервативных остатков глицина в положении (-2)Ser* и гидрофобных аминокислот в положении (-3)Lys*.

Таблица 3. Консервативные фрагменты первичных структур LexA репрессоров подсемейств I и II, включающие остатки каталитических центров.

	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	*	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7	+8	+9	+10	+11	-3	-2	-1	*	+1	+2
LexA I	D/ N	F/ Y	L	L	R/ K	V	X	G	Ф	S	M	K	D/ N	I/ V	G	I	Ф	D	G	D	L	V	T	V	K	R	L/ F
LexA II	X	F/ Y	Ф	L	X	V/ I	X	G	D/ E	S	M	X	X	X	I/ V	X	X	D/ N	G/ K	D	Ф	Ф	T	V/ L	K	X	Ф/ K

Примечания: * - каталитически активные остатки; F - остатки гидрофобных аминокислот; X - остатки любых аминокислот; жирным шрифтом выделены абсолютно консервативные остатки; курсивом - остатки, консервативность которых превышает 90 %.

Таблица 4. Сопоставление консервативных фрагментов подсемейств Lon-протеиназ и LexA репрессоров, включающих остатки каталитических центров.

Фермент	-6	-5	-4	-3	-2	-1	*	+1	+2	-3	-2	-1	*	+1	+2
Lon A	X	P/S	K	D	G	P	S	A	G	Ф	K/R	X	K	X	Ф/X
LexA I	L	R/K	V	X	G	Ф	S	M	K	V	T	V	K	R	Ф
Lon B	X	X	Ф	E/D	G	D	S	A	S/T	Ф	T/N	X	K	Ф	E
LexA II	L	X	Ф	X	G	D/E	S	M	X	Ф	T	Ф	K	X	X

Примечания: * - каталитически активные остатки; F - остатки гидрофобных аминокислот; X - остатки любых аминокислот; жирным шрифтом выделены абсолютно консервативные для каждого подсемейства остатки.

Lon-протеиназа - ДНК-связывающий белок [24], однако локализация области связывания ДНК в ферменте до настоящего времени неизвестна. Обнаруженное сходство между Lon и LexA в окружении их каталитических остатков послужило основанием для изучения возможности локализации области связывания ДНК в Lon-протеиназе путем сопоставления аминокислотной последовательности фермента с ДНК-связывающими фрагментами структуры LexA репрессоров. Из табл. 5 видно, что ДНК-связывающие фрагменты LexA I репрессоров содержат 16 консервативных аминокислотных остатков в 21-членном пептиде. Значительно менее выраженное подобие наблюдается среди репрессоров LexA II. Вместе с тем сходство между ДНК-связывающими фрагментами подсемейств I и II проявляется весьма отчетливо (табл. 5).

Можно было ожидать, что область связывания ДНК в Lon-протеиназе удалена от протеолитического центра и локализуется либо в N-концевом домене (около 220 а.о.), либо в центральном, АТРазном домене (440-460 а.о.) фермента. Однако оказалось, что фрагмент, подобный ДНК-связывающему пептиду LexA I, обнаруживается в протеолитическом домене Lon-протеиназы из *E. coli* на расстоянии всего 33 аминокислотных остатков от каталитически активного Ser679. Он представлен 24-членным пептидом (K623 - R646) в первичной структуре фермента (табл. 6).

Таблица 5. ДНК-связывающие фрагменты LexA репрессоров.

№	Источник	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	№-№	Ser №	Lys №	AA
		LexA I																								
1	<i>E.coli</i>	R	A	E	I	A	Q	R	L	G	F	R	S	P	N	A	A	E	E	H	L	K	28-48	119	156	202
2	<i>Sal.typh.</i>	R	A	E	I	A	Q	R	L	G	F	R	S	P	N	A	A	E	E	H	L	K	28-48	119	156	202
3	<i>Erv.car.</i>	R	A	E	I	A	Q	Q	L	G	F	R	S	P	N	A	A	E	E	H	L	K	28-48	119	156	202
4	<i>Aer.hyd.</i>	R	A	E	I	A	Q	K	L	G	F	K	S	A	N	A	A	E	E	H	L	K	28-48	124	161	207
5	<i>Pr.ret.</i>	R	A	E	I	A	A	S	L	G	F	R	S	P	N	A	A	E	E	H	L	K	28-48	122	159	205
6	<i>Ps.aer.</i>	R	A	E	I	A	Q	E	L	G	F	K	S	P	N	A	A	E	E	H	L	K	28-48	125	162	204
7	<i>Rh.sph.</i>	R	A	E	I	A	Q	E	L	G	F	K	S	P	N	A	A	E	E	H	L	K	28-48	123	160	202
8	<i>Hae.infl.</i>	R	A	E	I	S	R	E	L	G	F	K	S	A	N	A	A	E	E	H	L	K	28-48	123	160	207
9	<i>Pas.mult.</i>	R	A	E	I	S	K	E	L	G	F	K	S	P	N	A	A	E	E	H	L	K	31-51	127	164	211
	<i>LexA I</i>	R	A	E	I	A/S	X	X	L	G	F	K/R	S	P/A	N	A	A	E	E	H	L	K				
		LexA II																								
1	<i>Myc.tub.</i>	I	R	E	I	G	D	A	V	G	L	T	S	T	S	S	V	A	H	Q	L	R	32-52	141	178	217
2	<i>Myc.lep.</i>	I	R	E	I	A	D	A	V	G	L	T	S	T	S	S	V	A	H	Q	L	R	29-49	141	178	217
3	<i>Str.coel.</i>	M	R	E	I	G	Q	A	V	G	L	S	S	T	S	S	V	A	H	Q	L	M	52-72	158	195	234
4	<i>Str.clav.</i>	M	R	E	I	G	Q	A	V	G	L	S	S	T	S	S	V	A	H	Q	L	M	58-78	163	200	239
5	<i>Bac.hal.</i>	V	R	E	I	G	E	A	V	G	L	A	S	S	S	T	V	H	G	H	L	S	28-48	129	167	207
6	<i>Xyl.fast.</i>	Q	T	E	I	A	R	A	F	G	F	K	G	V	R	A	V	Q	H	H	L	D	27-47	131	168	211
7	<i>Xan.ax.</i>	Q	T	E	I	A	R	A	F	G	F	K	G	I	R	A	A	Q	Y	H	L	E	27-47	133	170	213
8	<i>Ps.put.</i>	F	D	E	M	K	D	A	L	D	L	R	S	K	S	G	I	H	R	L	I	T	26-46	149	187	228
9	<i>St.aur.</i>	V	R	E	I	G	E	A	V	G	L	A	S	S	S	T	V	H	G	H	L	S	28-48	130	168	207
10	<i>Bac.sub.</i>	V	R	E	I	G	E	A	V	G	L	A	S	S	S	T	V	H	G	H	L	A	28-48	127	165	205
11	<i>Dei.rad.</i>	A	G	Q	V	A	Q	E	V	G	I	T	-	K	Q	A	I	S	Q	Q	V	N	25-44	120	159	210
12	<i>Vibr.ch.</i>	R	A	E	I	A	K	E	L	G	F	R	S	A	N	A	A	E	E	H	L	K	28-48	126	163	209
13	<i>The.nea.</i>	V	R	E	I	A	R	R	F	R	I	T	-	P	R	G	A	Q	L	H	L	V	28-47	119	156	197
14	<i>The.mar.</i>	V	R	E	I	A	R	R	F	R	I	T	-	P	R	G	A	L	L	H	L	I	28-47	119	156	197
	<i>LexA II</i>	X	X	E/Q	Φ	X	X	X	Φ	X	Φ	X	S/G	X	X	A/S/G/T	Φ	X	X	X	Φ	X				

Примечание: Сокращения расшифрованы в подписи к табл. 2; №-№ – локализация фрагмента в молекуле LexA; Ser№ и Lys№ – номера каталитически активных остатков; AA – количество аминокислотных остатков в молекуле LexA.

Таблица 6. Сопоставление ДНК-связывающих фрагментов протеиназ Lon A и репрессоров LexA I.

Фермент	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
LexA I	R	A	E	I	A/S	X	X	L	G	-	F		K/R		S	P/A	N	A	A	E	E	H	L	K
Lon	623	624	625	626	627	628	629	630	631	632	633	634	635	636	637	638	639	640	641	642	643	644	645	646
<i>E. coli</i>	K	L	T	Y	T	G	S	L	G	E	V	M	Q	E	S	I	Q	A	A	L	T	V	V	R
Lon A	X	Ф	X	Ф/X	T	G	X	Ф	G/X	D/E /X	Ф	M/I	K/R/Q	E	S	Ф/S	X	Ф	A/S	Ф/X	S/T/G /A	Ф/C	Ф/S	R/K/ H/G

Примечания: F - остатки гидрофобных аминокислот; X - остатки любых аминокислот; жирным шрифтом выделены абсолютно консервативные остатки; курсивом - остатки, консервативность которых превышает 90 %.

Общая структура потенциальных ДНК-связывающих фрагментов Lon-протеиназ подсемейства A, полученная путем сопоставления последовательностей их протеолитических доменов, также проявляет высокую степень подобия с ДНК-связывающим пептидом, характерным для подсемейства LexA I (табл. 6). Следует заметить, что в протеиназах Lon B общий для всех представителей подсемейства потенциальный ДНК-связывающий фрагмент к настоящему времени не обнаружен, несмотря на то, что в каждом отдельно взятом ферменте можно выделить фрагмент последовательности, подобный ДНК-связывающему пептиду из LexA.

Сигнальные пептидазы осуществляют N-концевой процессинг секретируемых белков. К этой группе серин-лизиновых ферментов относятся бактериальные лидерные пептидазы или сигнальные пептидазы I (Lep и SipS; семейства S26.001 и 26.003-008; №№ 1-6, 8-12, 14-18, 21 и 23 в табл. 7), сигнальные протеиназы органелл и эукариот (Sip, семейства S26.002 и 26.010; №№ 27-31 в табл. 7; принадлежность пептидаз №№ 7, 13, 19, 20, 22 и 24-26 к какому-либо из вышеупомянутых семейств в настоящее время не установлена) [24]. Все сигнальные пептидазы I бактерий являются интегральными трансмембранными белками. В N-концевой части пептидаз Lep локализовано от одного до трех трансмембранных сегментов, пептидазы бацилл SipS содержат один такой сегмент. Митохондриальные и эукариотические сигнальные пептидазы представляют собой часть мультикомпонентных комплексов, содержащих до пяти различных интегральных трансмембранных субъединиц [24].

Из сопоставления фрагментов аминокислотных последовательностей, окружающих каталитически активные остатки серина и лизина в сигнальных пептидазах (табл. 7), видно, что строго консервативными для этой группы ферментов являются только собственно Ser* и Lys* и остаток метионина (+1)Ser*. В то же время надо отметить наличие у всех ферментов гидрофобных остатков в положениях (-4)Ser*, (+5)Ser* и (-2)Lys*. Более чем на 90 % идентичны остатки в положениях (+3)Ser* (пролин) и (+4)Ser* (треонин), а также в положениях (-1)Lys* (гидрофобная аминокислота) и (+1)Lys* (аргинин). Однако в первичных структурах представителей группы сигнальных пептидаз не обнаруживается общих для всех ферментов консервативных фрагментов, включающих каталитически активные остатки.

Последнюю группу в клане серин-лизиновых пептидгидролаз составляют ферменты, гидролизующие клеточные белки в их C-концевых областях [24]. Протеиназы Tsp ("tail"-specific proteinases) деградируют белки с неполярными C-концевыми аминокислотами [24] и дефектные или укороченные белки, предварительно подвергшиеся внутриклеточной модификации с присоединением 11-членной сигнальной последовательности AANDENYALAA (см. ссылки в [6]). Ctp пептидазы играют ключевую роль в функционировании мультисубъединичного пигмент-белкового комплекса фотосистемы II цианобактерий, растений и водорослей (белок D1, образующийся из проформы путем отщепления C-концевого пропептида с помощью Ctp пептидазы, участвует в образовании активного Mn-кластера в фотосистеме) [24].

Несмотря на то, что представительность этой группы относительно невысока (семь ферментов), из табл. 8 следует, что фрагменты аминокислотных последовательностей при каталитически активных остатках пептидаз Tsp и Ctp

Таблица 7. Фрагменты аминокислотных последовательностей сигнальных пептидаз (Lep, SipS и Sip), включающие каталитически активные остатки серина и лизина.

№	Источник	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	*	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7	+8	+9	+10	-3	-2	-1	*	+1	+2	Ser №	Lys №	AA
1	<i>E.coli</i>	Y	E	P	F	Q	I	P	S	G	S	M	M	P	T	L	L	I	G	D	F	D	Y	I	K	R	A	91	146	324
2	<i>Sal.typh.</i>	Y	E	P	F	Q	I	P	S	G	S	M	M	P	T	L	L	I	G	D	F	D	Y	I	K	R	A	91	146	324
3	<i>Buch.aph.</i>	Y	E	P	F	Q	I	P	S	G	S	M	M	P	T	L	L	V	G	D	F	N	Y	I	K	R	I	88	143	314
4	<i>Ps.aer.</i>	V	E	P	F	Q	I	P	S	G	S	M	K	P	T	L	E	V	G	D	F	N	Y	I	K	R	V	90	145	284
5	<i>Ps.fluor.</i>	V	E	P	F	Q	I	P	S	G	S	M	K	P	T	L	D	V	G	D	F	N	Y	I	K	R	V	90	145	284
6	<i>Hae.inf.</i>	F	E	P	F	Q	I	P	S	G	S	M	E	S	T	L	R	V	G	D	F	D	Y	I	K	R	I	115	196	349
7	<i>Rick.prow.</i>	M	E	P	F	T	V	P	T	G	S	M	K	A	T	I	L	E	N	D	Y	R	Y	I	K	R	L	43	106	264
8	<i>Bac.am.(2)</i>	F	E	P	Y	L	V	E	G	S	S	M	Y	P	T	L	H	D	G	E	R	H	Y	V	K	R	L	51	93	193
9	<i>Bac.lich.</i>	F	E	P	Y	L	V	E	G	T	S	M	D	P	T	L	H	D	G	E	R	H	Y	V	K	R	L	44	86	186
10	<i>Bac.sub.(1)</i>	F	E	P	Y	L	V	E	G	S	S	M	Y	P	T	L	H	D	G	E	R	H	Y	V	K	R	L	51	93	193
11	<i>Bac.sub.(U)</i>	Y	K	P	F	L	I	E	G	S	S	M	A	P	T	L	K	D	S	E	R	S	F	V	K	R	L	46	88	187
12	<i>Synyst.(2)</i>	A	E	A	R	Y	I	P	S	S	S	M	E	P	T	L	Q	I	N	D	R	A	F	I	K	R	I	52	100	218
13	<i>Aq.aeol.</i>	A	Q	A	Y	T	I	P	S	A	S	M	E	P	T	L	L	V	G	D	F	D	F	I	K	R	I	32	75	256
14	<i>Bac.sub.</i>	F	A	P	Y	V	V	D	G	D	S	M	Y	P	T	L	H	N	R	E	R	H	Y	V	K	R	I	43	83	184
15	<i>Synyst.(1)</i>	A	E	P	R	Y	I	P	S	D	S	M	L	P	T	L	E	Q	G	D	R	A	F	I	K	R	V	44	94	196
16	<i>St.aur.</i>	V	T	P	Y	T	I	K	G	E	S	M	D	P	T	L	K	D	G	E	R	D	Y	V	K	R	V	36	77	191
17	<i>Bac.sub.(Q)</i>	F	E	P	Y	I	V	Q	G	E	S	M	K	P	T	L	F	N	S	E	R	H	Y	V	K	R	L	43	85	185
18	<i>Bac.am.(1)</i>	F	A	P	Y	V	V	D	G	E	S	M	E	P	T	L	H	D	R	E	R	H	Y	V	K	R	I	45	85	185
19	<i>Myc.lep.</i>	A	R	P	Y	L	I	P	S	E	S	M	E	P	T	L	H	G	C	S	G	D	L	V	K	R	V	84	162	289
20	<i>Myc.tub.</i>	A	R	P	Y	L	I	P	S	E	S	M	E	P	T	L	H	G	C	S	T	D	L	V	K	R	V	96	174	294
21	<i>Phor.lam.</i>	A	E	A	R	Y	I	P	S	E	S	M	L	P	T	L	E	V	N	D	L	A	F	I	K	R	V	59	109	203
22	<i>Bac.cal.</i>	F	S	N	Y	V	V	E	G	K	S	M	M	P	T	L	E	S	G	N	L	D	Y	V	K	R	V	38	79	182
23	<i>Bac.sub.(P)</i>	F	E	P	Y	V	V	E	G	K	S	M	D	P	T	L	V	D	S	E	R	H	Y	V	K	R	L	44	86	186
24	<i>Str.pn.</i>	W	S	N	V	R	V	E	G	H	S	M	D	P	T	L	A	D	G	E	I	D	I	V	K	R	V	38	76	204
25	<i>Hel.pyl.</i>	A	Q	A	F	I	I	P	S	R	S	M	V	G	T	L	Y	E	G	D	M	Y	Y	V	K	R	N	38	106	290
26	<i>Hel.pyl.(1)</i>	A	Q	A	F	I	I	P	S	R	S	M	V	G	T	L	Y	E	G	D	M	Y	Y	V	K	R	N	38	106	290
27	<i>Sac.cer.(1)</i>	Y	E	F	T	E	T	R	G	E	S	M	L	P	T	L	S	A	T	N	D	R	I	C	K	R	V	40	84	190
28	<i>Sac.cer.(2)</i>	V	H	I	A	Q	V	K	G	T	S	M	G	P	T	L	N	P	Q	T	E	V	Y	C	K	R	V	41	91	177
29	<i>Can.fam.</i>	S	P	I	V	V	V	L	S	G	S	M	E	P	A	F	H	R	G	D	L	R	V	I	K	V	H	68	112	192
30	<i>Rat.nor.</i>	S	P	I	V	V	V	L	S	G	S	M	E	P	A	F	H	R	G	D	L	R	V	L	K	I	H	56	100	179
31	<i>Homo.sap.</i>	S	P	I	V	V	V	L	S	G	S	M	E	P	A	F	H	R	G	D	L	R	V	L	K	I	H	56	100	179
		X	X	X	X	X	Φ	X	S/G	X	S	M	X	P/X	T/A	Φ	X	X	X	X	X	X	Φ	Φ/C	K	R/Φ	X			

Сокращения частично расшифрованы в подписи к табл. 2; *Buch.aph.* - *Buchnera aphidicola*; *Ps.fluor.* - *Pseudomonas fluorescens*; *Rick.prow.* - *Rickettsia prowazekii*; *Bac.am.* - *Bacillus amyloliquefaciens*; *Bac.lich.* - *Bacillus licheniformis*; *Synyst.* - *Synechocystis sp.*; *Aq.aeol.* - *Aquifex aeolicus*; *Phor.lam.* - *Phormidium laminosum*; *Bac.cal.* - *Bacillus caldolyticus*; *Str.pn.* - *Streptococcus pneumoniae*; *Hel.pyl.* - *Helicobacter pylori*; *Sac.cer.* - *Saccharomyces cerevisiae*; *Can.fam.* - *Canis familiaris*; *Rat.nor.* - *Rattus norvegicus*; F - остатки гидрофобных аминокислот; X - остатки любых аминокислот; жирным шрифтом выделены абсолютно консервативные остатки; Ser№ и Lys№ - номера каталитически активных остатков; AA - количество аминокислотных остатков в молекуле фермента.

Таблица 8. Фрагменты аминокислотных последовательностей Tsp протеиназ и Ctp пептидаз, включающие каталитически активные остатки серина и лизина

№	Источник	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	*	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7	+8	-3	-2	-1	*	+1	+2	Ser№	Lys №	AA
Tsp протеиназы																												
1	<i>E.coli</i>	V	V	L	V	D	R	F	S	A	S	A	S	E	I	F	A	A	A	T	F	G	K	G	T	452	477	682
2	<i>Hae.inf.</i>	F	V	M	I	N	R	Y	S	A	S	A	S	E	I	F	A	A	A	T	F	G	K	G	T	459	484	695
3	<i>Str.coel.</i>	V	A	L	V	D	G	G	T	M	S	A	A	E	L	L	T	G	A	T	F	G	K	G	S	286	311	374
4	<i>Neis.mening.</i>	T	V	L	V	N	S	G	S	A	S	A	S	E	I	V	A	G	A	S	F	G	K	G	S	320	345	494
Ctp пептидазы																												
5	<i>Syncoc.</i>	V	V	L	V	N	G	A	T	A	S	A	S	E	I	L	A	G	A	T	F	G	K	G	L	310	335	411
6	<i>Synyst.</i>	V	V	L	V	N	Q	G	T	A	S	A	S	E	I	L	A	G	A	T	F	G	K	G	L	313	338	427
7	<i>Spinac.oler.</i>	V	V	L	V	N	K	G	T	A	S	A	S	E	I	L	A	G	A	T	Y	G	K	G	K	441	466	539
		Ф	Ф	Ф	Ф	N/D	X	X	T/S	A/M	S	A	S/A	E	Ф	Ф	A/T	G/A	A	T/S	Ф	G	K	G	X			

Сокращения частично расшифрованы в подписях к табл. 2 и 7; *Neis.mening.* – *Neisseria meningitides*; *Syncoc.* – *Synechococcus. sp.*; *Spinac.oler.* – *Spinacia oleracea*; Ф – остатки гидрофобных аминокислот; X – остатки любых аминокислот; жирным шрифтом выделены абсолютные консервативные остатки; Ser№ и Lys№ – номера каталитически активных остатков; AA – количество аминокислотных остатков в молекуле фермента.

ПЕПТИДГИДРОЛАЗЫ С КАТАЛИТИЧЕСКОЙ ДИАДОЙ SER - LYS

проявляют высокую степень подобия: в шести положениях из 24-х рассматриваемых локализованы строго консервативные остатки, а в двенадцати - подобные.

Табл. 9 обобщает данные о консервативных фрагментах активных центров пептидгидролаз всех групп, образующих клан SF, характеризующийся функционированием каталитической диады Ser - Lys в активном центре. Интересно, что общими для всех ферментов являются только каталитически активные остатки. Вместе с тем необходимо отметить подобие аминокислот, локализованных в положениях (-2 и +1)Ser*, и значительное различие аминокислот, локализованных в положениях (-1 и +2)Ser*. Сходства между группами рассматриваемых пептидгидролаз, определяющегося природой аминокислот вблизи каталитически активного лизина, выявить не удастся (табл. 9). Можно предполагать, что именно остатки, расположенные в непосредственной близости от активного серина (положения (-2 - +2)Ser*), являются определяющими при формировании активных центров ферментов разных групп клана SF, окружение активного лизина играет, по-видимому, второстепенную роль.

Таблица 9. Сопоставление консервативных фрагментов аминокислотных последовательностей серин-лизиновых пептидгидролаз и ряда классических сериновых протеиназ.

Фермент	-6	-5	-4	-3	-2	-1	*	+1	+2	+3	-3	-2	-1	*	+1	+2
Пептидгидролазы с каталитической диадой Ser - Lys																
Lep-SipS-Sip	X	X	Ф	X	S/G	X	S	M	X	P/X	X	Ф	Ф/С	К	R/Ф	X
LexA I	L	R/K	V	X	G	Ф	S	M	K	D/N	V	T	V	К	R	Ф
Lon A	X	P/S	K	D	G	P	S	A	G	Ф	Ф	K/R	X	К	X	Ф/X
Tsp-Стр	Ф	N/D	X	X	T/S	A/M	S	A	S/A	E	T/S	Ф	G	К	G	X
Lon B	X	X	Ф	E/D	G	D	S	A	S/T	Ф	Ф	T/N	X	К	Ф	E
LexA II	L	X	Ф	X	G	D/E	S	M	X	X	Ф	T	Ф	К	X	X
Протеиназы с каталитической триадой Ser - His - Asp																
Химотрипсин		S	C	M	G	D	S	G	G	P						
Эластаза		G	C	M	G	D	S	G	G	P						
Катепсин G		A	F	K	G	D	S	G	G	P						
Субтилизин		A	Y	N	G	T	S	M	A	S						
Протеиназа K		R	S	I	S	T	S	M	A	T						
Clp P		M	G	Q	A	A	S	M	G	A						

Примечание: * - каталитически активные остатки; F - остатки гидрофобных аминокислот; X - остатки любых аминокислот; жирным шрифтом выделены остатки, абсолютно консервативные для каждого подсемейства клана SF.

Для сравнения в табл. 9 приведено строение консервативных серин-содержащих фрагментов ряда протеиназ с классической каталитической триадой Ser - His - Asp [25]. Видно, что близкие к типичному для протеиназ семейства химотрипсина мотиву GDS*GG фрагменты обнаруживаются в Lon-протеиназах (GPS*AG для Lon A и GDS*AS/T для Lon B), а мотив GFMS, подобный мотиву GTSM, имеющему место в протеиназах семейства субтилизина, характерен для LexA I репрессоров. Определенное сходство можно обнаружить и между серин-содержащими фрагментами сигнальных пептидаз Lep-SipS-Sip и протеиназы K. Интересно отметить, что по строению соответствующего фрагмента ClpP (протеолитическая субъединица АТФ-зависимой протеиназы ClpAP) не обнаруживает подобия ни с одной из рассматриваемых классических сериновых протеиназ.

В заключение можно констатировать, что в настоящей работе установлено, что ранее неклассифицированное семейство Lon-протеиназ относится к клану серин-лизиновых пептидгидролаз; путем сравнительного анализа аминокислотных последовательностей ферментов различных семейств, составляющих этот клан, выявлено значительное сходство между первичными структурами Lon-протеиназ и репрессоров LexA в областях, включающих каталитически активные остатки серина и лизина; показано, что семейства Lon и

LexA подразделяются на два подсемейства каждое в зависимости от природы аминокислот в окружении каталитически активного серина и обнаружены потенциальные области связывания ДНК в протеолитических доменах Lon-протеиназ подсемейства А. Окончательное заключение о справедливости выдвинутых в работе предположений можно будет сделать после рентгеноструктурного исследования ферментов семейства Lon-протеиназ.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проекты 01-04-49278 и 02-04-48481).

ЛИТЕРАТУРА

1. Wickner S., Maurizi M.R., Gottesman S. (1999) *Science*, **286**, 1888-1893.
2. Лузиков В.Н. (2002) *Биохимия*, **67**, 205-219.
3. Brodsky J.L., McCracken A.A. (1997) *Trends Cell Biol.*, **7**, 151-156.
4. Gottesman S. (1996) *Ann. Rev. Genet.*, **30**, 465-506.
5. Ротанова Т.В. (2001) *Вопр. мед. химии*, **47**, 3-19.
6. Старкова Н.Н., Королева Е.П., Ротанова Т.В. (2000) *Биоорган. химия*, **26**, 83-97.
7. Maurizi M.R., Li C.C.H. (2001) *EMBO Rep.*, **2**, 980-985.
8. Neuwald A.F., Aravind L., Spouge J.L., Koonin E.V. (1999) *Genome Res.*, **9**, 27-43.
9. Patel S., Latterich M. (1998) *Trends Cell. Biol.*, **8**, 65-71.
10. Maupin-Furlow J.A., Wilson H.L., Kaczowka S.J., Ou M.S. (2000) *Front. Biosci.*, **5**, D837-865.
11. Beyer A. (1997) *Protein Sci.*, **6**, 2043-2058.
12. Swaffield J.C., Bromberg J.F., Johnson S.A. (1992) *Nature*, **357**, 698-700.
13. Maurizi M.R., Thompson M.W., Singh S.K., Kim S.-H. (1994) *Meth. Enzymol.*, **178**, 314-341.
14. Tomoyasu T., Yuki T., Morimura Sh., Mori H., Yamanaka K., Niki H., Hiraga S., Ogura T. (1993) *J. Bacteriol.*, **175**, 1344-1351.
15. Yoo S.J., Shim Y.K., Seong I.S., Seol J.H., Kang M.S., Chung C.H. (1997) *FEBS Lett.*, **412**, 57-60.
16. Groll M., Ditzel L., Lowe J., Stock D., Botchler M., Bartunik H.D., Huber R. (1997) *Nature*, **386**, 463-471.
17. Waxman L., Goldberg A.L. (1985) *J. Biol. Chem.*, **260**, 12022-12028.
18. Amerik A.Yu., Antonov V.K., Gorbalenya A.E., Kotova S.A., Rotanova T.V., Shimbarevich E.V. (1991) *FEBS Lett.*, **287**, 211-214.
19. Starkova N.N., Koroleva E.P., Rumsh L.D., Ginodman L.M., Rotanova T.V. (1998) *FEBS Lett.*, **422**, 218-220.
20. Ротанова Т.В. (1999) *Биоорган. химия*, **25**, 883-891.
21. Ротанова Т.В., Мельников Э.Э., Цирульников К.Б. (2003) *Биоорган. химия*, **29**, 97-99.
22. Birghan C., Mundt E., Gorbalenya A.E. (2000) *EMBO J.*, **19**, 114-123.
23. Paetzel M., Dalbey R.E. (1997) *Trends Biochem. Sci.*, **22**, 28-31.
24. Barrett A.J., Rawlings N.D., Woessner J.F. (eds) (1998) *Handbook of Proteolytic Enzymes*. Acad. Press. New York.
25. Антонов В.К. (1991) *Химия протеолиза*, Наука. Москва.

Поступила 12.07.2002.

**PEPTIDE HYDROLASES WITH CATALYTIC DYAD
SER - LYS. SIMILARITY AND DISTINCTIONS OF
THE ACTIVE CENTERS OF ATP-DEPENDENT PROTEASES Lon,
REPRESSORS LexA, SIGNAL PEPTIDASES AND
C-TERMINAL PROCESSING PROTEASES**

T.V. Rotanova

Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,

Ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP Moscow, 117997 Russia

Phone: +7 (095) 335-4222; e-mail: rotanova@enzyme.siocb.ras.ru

It is established that ATP-dependent protease Lon family belongs to the serine-lysine peptide hydrolases clan. Significant similarity of amino acid sequences of proteases Lon and repressors LexA in the regions including the catalytic serine and lysine residues is revealed by comparing primary structures of different families of the enzymes with Ser - Lys catalytic dyad. The both Lon and LexA families are shown to be divided into two subfamilies in accordance with the nature of amino acids in the catalytically active serine environment. Putative DNA binding sites are revealed in proteolytic domains of Lon A subfamily. Similarities and distinctions of the all families peptide hydrolases of the clan in the regions of their active centers are discussed.

Key words: catalytic dyad Ser - Lys, ATP-dependent protease Lon repressors, LexA, subfamilies, signal peptidases, tail-specific proteases, C-terminal processing peptidases.