

УДК 577.152.342*1'134; 577.322.23
©Ротанова, Мельников

НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА СТРОЕНИЕ НЕКАТАЛИТИЧЕСКОЙ N-КОНЦЕВОЙ ОБЛАСТИ АТФ-ЗАВИСИМЫХ LonA-ПРОТЕИНАЗ

Т.В. Ротанова, Э.Э. Мельников*

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова РАН, 117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая 16/10;
тел.: (495)335-42-22; факс: (495)335-71-03; эл. почта: rotanova@enzyme.sioc.ras.ru

АТФ-зависимые Lon-протеиназы – компоненты системы контроля качества белков, поддерживающей сохранность клеточного протеома. Семейство Lon состоит из двух подсемейств А и В, различающихся строением субъединиц и внутриклеточной локализацией. Предложена доменная организация некаталитической N-концевой области LonA-протеиназ. На примере LonA-протеиназы из *Escherichia coli* (*EcLon*) показано, что между N-концевыми доменами и AAA⁺-модулями ферментов локализован фрагмент (α N-домен), подобный α 1-домену первого AAA⁺-модуля шаперона-деагрегазы ClpB. Включенная в выявленный α N-домен область, обладающая так называемой coiled-coil (CC) структурой, аналогична вставочному M-домену ClpB-шаперонов и предположительно может рассматриваться как пропеллероподобный домен (PL-домен). Постулировано принципиальное устройство N-концевых областей LonA-протеиназ, характеризующееся обязательным присутствием PL-домена, инкорпорированного в α N-домен, но различающееся протяженностью и укладкой предшествующих N-концевых доменов, которые в ряде случаев могут иметь более сложное, чем для *EcLon*, строение.

Ключевые слова: AAA⁺-белки, АТФ-зависимый протеолиз, Lon-протеиназа, шапероны ClpB, пропеллероподобный домен, coiled-coil область.

* - адресат для переписки

СТРОЕНИЕ НЕКАТАЛИТИЧЕСКОЙ N-КОНЦЕВОЙ ОБЛАСТИ LonA-ПРОТЕИНАЗ

ВВЕДЕНИЕ. Внутриклеточные Lon-протеиназы (КФ 3.4.21.53; MEROPS: клан SJ, S16), наряду с другими энергозависимыми пептидгидролазами и молекулярными шаперонами, образуют систему контроля качества (СКК) белков, играющую ключевую роль в сохранности клеточного протеома [1, 2]. Компоненты СКК способствуют правильному сворачиванию (фолдингу) белков, предотвращению образования белковых агрегатов, а также участвуют в деградации как регуляторных, так и аномальных и дефектных белков. Вовлеченные в СКК пептидгидролазы – сложные ферменты, в состав которых входят АТРазные и протеолитические компоненты (субъединицы или домены) и которые относятся к суперсемейству AAA⁺-белков (АТРаз с альтернативными активностями, имеющих сходное строение АТР-азных составляющих, сформированных характеристическими AAA⁺-модулями) [3].

Lon-Протеиназы – гомолигомерные эндопептидазы, их AAA⁺-модули и протеолитические домены (Р-домены) последовательно локализованы в единой полипептидной цепи [4, 5]. Семейство Lon подразделяется на два подсемейства А и В, первое из которых объединяет цитоплазматические Lon-протеиназы бактерий и эукариот, а второе – мембраносвязанные Lon-протеиназы архей, содержащие вставочные трансмембранные (ТМ) домены внутри AAA⁺-модулей [6-8] (рис. 1). Основным отличием подсемейства LonA служит наличие пролонгированной N-концевой области, не имеющей каталитической активности и содержащей, согласно предсказанию фрагмент последовательности размером около 100 аминокислотных остатков (а.о.) со специфической coiled-coil (CC) конформацией, образующейся в результате скручивания α -спиралей [9]. В активных центрах С-концевых Р-доменов всех Lon-протеиназ функционирует каталитическая диада Ser–Lys [10, 11]. Наряду с тем, что пространственное строение полноразмерных Lon-протеиназ до настоящего времени не определено, получены рентгеноструктурные данные для ряда изолированных доменов ферментов [12-16]. Анализ строения Р-домена LonA-протеиназы из *Escherichia coli* (EcLon) [12] выявил уникальность его пространственной структуры, что послужило основанием для выделения семейства Lon в самостоятельный структурный клан SJ.

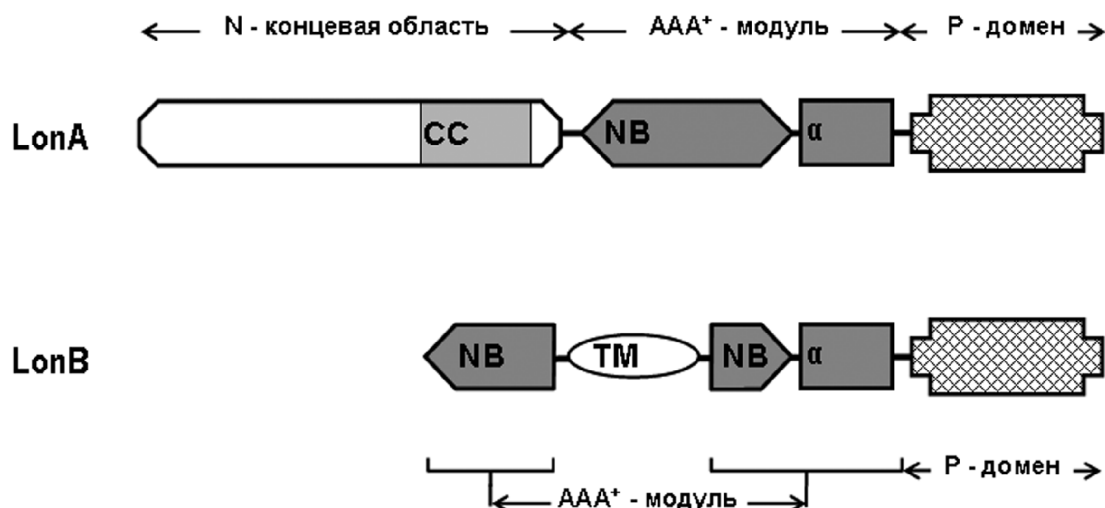


Рисунок 1.

Схема строения LonA- и LonB-протеиназ. NB - нуклеотидсвязывающие домены; α - α -спирализованные домены; Р - протеолитические домены; CC - coiled-coil-участок; ТМ - трансмембранный домен. Домены NB и α формируют AAA⁺-модули.

AAA⁺-Модули Lon-протеиназ, предшествующие их Р-доменам, имеют традиционную для AAA⁺-белков организацию и состоят из двух структурных доменов – большего нуклеотидсвязывающего (NB-домен) и меньшего α -спирализованного (α -домен) [8] (рис. 1). В NB-доме содержатся консенсусные мотивы Уолкера А и В и SRH-фрагмент (или “вторая область гомологии”, характеристичная для AAA⁺-белков), а также консервативные остатки Asp (sensor-1) и Arg (“аргининовый палец”). Еще один консервативный для AAA⁺-белков остаток Arg (sensor-2) локализован в -доменах Lon-протеиназ. Остатки мотивов Уолкера вместе с сенсорными остатками участвуют в катализе гидролиза нуклеотидов, а “аргининовые пальцы” взаимодействуют с АТФ различными центрами NB-доменов соседних субъединиц. Полагают, что α -домены могут участвовать в олигомеризации, и кроме того, область, окружающая sensor-2-остаток, может быть непосредственным образом вовлечена в процесс ремоделирования (изменения конформации) белкового субстрата [8, 17]. На примере фермента из *E. coli* установлено, что α -домены AAA⁺-модуля Lon-протеиназ обладают кристаллической структурой, типичной для α -доменов многих AAA⁺-белков [13].

Наименее исследованной в структурно-функциональном отношении остается N-концевая область LonA-протеиназ (рис. 1). Вместе с тем получены данные, свидетельствующие о важности этой области и, в особенности её СС-участка, как для олигомеризации и функционирования ферментов [18–20], так и для распознавания ими белков-мишеней [21]. Значительная протяжённость и вариабельность размера N-концевой области (300–330 а.о. у бактериальных ферментов и 420–570 а.о. у ферментов эукариот) прямо указывают на её мультидоменную организацию, которая, как можно ожидать, будет различаться (по крайней мере по количеству доменов) для LonA-протеиназ из различных источников. Кристаллическая структура первого домена N-концевой области *EcLon* (N-домен, а.о. 1–119) оказалась уникальной, хотя и подобной структуре N-домена белка BPP1347 из *Bordetella parapertussis*, функция которого неизвестна [14].

В настоящей работе на основании сопоставления аминокислотных последовательностей и вторичных структур белков подсемейства LonA и других АТФ-зависимых протеиназ, а также шаперонов семейства ClpB обнаружено топологическое подобие между фрагментами LonA-протеиназ, предшествующими их AAA⁺-модулям, и α -доменами первых AAA⁺-модулей шаперонов ClpB.

МЕТОДИКА. Аминокислотные последовательности белков получали из баз данных MEROPS (www.merops.sanger.ac.uk) и NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Предсказание вторичных структур белков, наличия coiled-coil-областей и последующий анализ топологии проводили с использованием ресурсов сервера ExPASy (www.expasy.org; <http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred>; www.ch.embnet.org).

ОБСУЖДЕНИЕ. Фрагмент аминокислотной последовательности *EcLon* (около 180 а.о.), заключенный между N-доменом (а.о. 1–119) и AAA⁺-модулем (а.о. ~300–584), и соответствующие фрагменты первичных структур других LonA-протеиназ проявляют выраженное подобие и сходство теоретически предсказанной вторичной структуры, включающей совокупность из восьми α -спирализованных сегментов. Именно эти фрагменты содержат участок с предполагаемой СС-конформацией, характерный для протеиназ подсемейства LonA.

В то же время сходный по размеру участок, имеющий coiled-coil-конформацию (так называемый промежуточный (M, middle) домен), обнаружен у других представителей AAA⁺-белков – молекулярных шаперонов ClpB, принадлежащих к семейству Hsp100 (Heat shock proteins, мол. масса 100 кДа) и участвующих совместно с системой шаперонов Hsp70 в дезагрегации клеточных белков [22–24]. Субъединицы ClpB состоят из последовательно соединенных N-концевых доменов и двух AAA⁺-модулей (AAA⁺-1 и AAA⁺-2), причем M-домен, сформированный четырьмя α -спиралями, расположен в первом AAA⁺-модуле между третьей и четвертой спиралями его α 1-домена [25, 26] (рис. 2А). Функциональный олигомер

СТРОЕНИЕ НЕКАТАЛИТИЧЕСКОЙ N-КОНЦЕВОЙ ОБЛАСТИ LonA-ПРОТЕИНАЗ

ClpV представляет двухъярусное гексамерное кольцо, независимо образованное каждым из его AAA⁺-модулей [22]. Мобильные пропеллерообразные М-домены, локализующиеся на внешней стороне кольца верхнего яруса, взаимодействуют как с белковой мишенью, так и с шапероном Hsp70, обеспечивая транслокацию мишени в центральный канал шаперона для ремоделирования [27, 28].

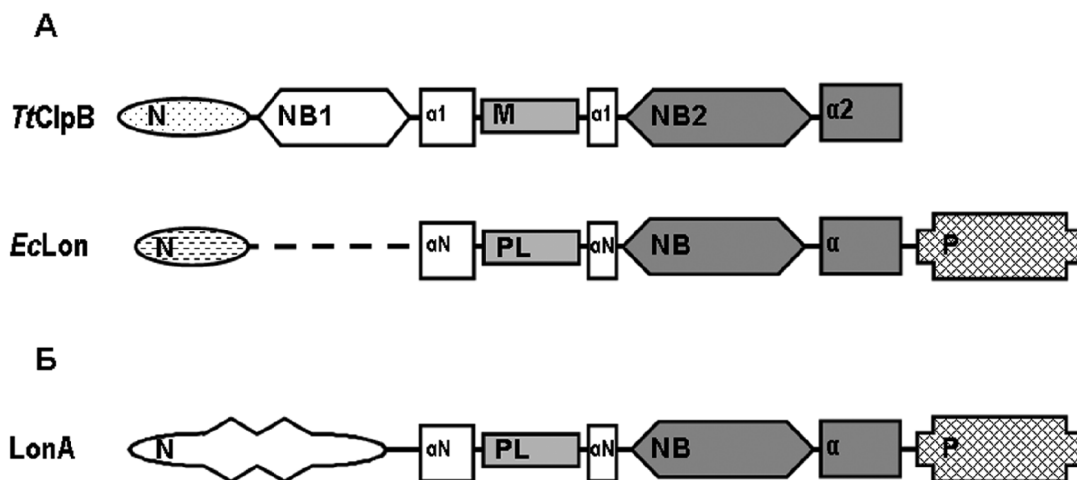


Рисунок 2.

Сопоставление строения шаперона *TtClpV* и *EcLon*-протеиназы (А) и общая доменная организация LonA-протеиназ (Б). N - N-концевые домены; NB - нуклеотидсвязывающие домены; α - α -спирализованные домены; М - промежуточный домен; PL - пропеллероподобный домен; Р - протеолитический домен. Домены NB1 и α 1 формируют AAA⁺-1-модуль, а NB2 и α 2 - AAA⁺-2-модуль шаперона *TtClpV*; NB- и α -домены формируют AAA⁺-модуль *EcLon*-протеиназы. Пунктиром отмечено отсутствие домена, подобного NB1-домену *TtClpV*, в структуре *EcLon*-протеиназы.

Исходя из представления о том, что функционирование протеиназ LonA также сопряжено с вовлечением их СС-участка в белок-белковые взаимодействия, можно было ожидать подобия между соответствующими фрагментами LonA-протеиназ и шаперонов ClpV как по первичной, так и по вторичной структуре. Действительно, оказалось, что четыре α -спирали, образующие СС-участок *EcLon* (K¹⁷⁵–M²⁸⁰), подобны и по размеру и по аминокислотному составу α -спиралям М-доменов шаперонов ClpV из *E. coli* и *Thermus thermophilus* (*EcClpV* и *TtClpV*) (рис. 3, строки 1-3). Более того, гидрофобные остатки М-доменов, формирующие специфические мотивы типа “лейциновая застежка-молния” (Leu zipper, гидрофобный кор coiled-coil-структуры) [26], сохраняют свое положение и в СС-участке *EcLon* (рис. 3). Как уже отмечалось, М-домены локализованы в α 1-доменах шаперонов ClpV между спиралями α 3 и α 4. Из рисунка 3 видно, что фланкирующие СС-участок *EcLon* фрагменты последовательности (S¹¹⁹–L¹⁷⁴) и (M²⁸¹–P³⁰²) также включают соответствующие α -спиральные сегменты: в первом фрагменте локализованы спирали α 1– α 3, а во втором – α 4.

Проведённый сравнительный анализ вторичных структур и аминокислотных последовательностей позволяет выдвинуть предположение, согласно которому фрагмент (S¹¹⁹–P³⁰²) в последовательности *EcLon* подобен α 1-домену шаперонов ClpV (α N-домен в LonA), а включенный в него СС-участок аналогичен М-домену ClpV и, вероятно, также характеризуется пропеллероподобным строением (PL-домен) (рис. 2А).

		Начало α -домена			
		спираль $\alpha 1$		спираль $\alpha 2$	
pB	331	e-ptVEETISIL--RGLKEKYE---VHhgvRIS--DSAIIAAATLSHRYi	372		
pB	340	e-psVEDTIAIL--RGLKERYE---LHhvhvQIT--DPAIVAAAATLSHRYi	381		
n	119	s-ptidEREQEVLVRTAISQFE-GYIKlnkki-pPEVLT---SLNsi---	159		
n	491	sgyTEDEKLNIAKRHLLPKQIERNaIKKG-ELtvDDSAII---GI-IRYY	535		
pB	757	--ltKEQIRQIVEIQ-LS-YLRARLAekriSLEltEAAKD---FLAERGy	799		
pB	766	--lgEDHIASIAQIQ-LK-RLYKRLEergyEIHIsDEALK---LSENGy	808		
		Начало M- или PL-домена			
		спираль $\alpha 3$		спираль CC- $\alpha 1$	
pB	373	terrIPDKAIDLIDEAAARLRM--ALesapEEIDA	420	ERKKLQLEIEREAL	
pB	382	adrqlPDKAIDLIDEAASSIRM--QIdskpEELDRLD	429	RRRIQLKLEQQAL	
n	160	-d-d-PARLADTI--AA-Hmp1-----KLADKQSVLEms---	187		
n	536	-treagVRGLEREISKLCRK-AVKQLLLDK-----	563		
pB	800	-dpvfgarpLRRVIQRELETPLAQKILSge-----	828		
pB	809	-dpvygarpLKRAIQQIENPLAQKILSge-----	837		
		sensor-2 ↑			
		спираль CC- $\alpha 2$			
pB	421	kkek dPDSQER-LKAIEA-E	468	TAKLTEETAKLRAEWEREREILRKLEAQH	
pB	430	mkes dEASKKR-LDMLNE-EL	477	EDKERQVSELEEEWKAEKASLSGTDTIKA	
n	188	--dVNERLEYLMAMESEIDLQVEKRIIRNVKKQMEKSOREYYLNEQMK	235		
n	563	-----	563		
pB	828	-----	828		
pB	837	-----	837		
		Конец M- или PL-домена			
		спираль CC- $\alpha 2$		спираль CC- $\alpha 3$	
pB	469	RLDEVRRETELAERQyd-LNRAAE	513	LRygeLPKLEA-EVEALSE-Klrg	
pB	478	ELEQAKIAIEQARRVgd-LARMS	523	ELyqkIPELE-KQLEAATQLegkt	
n	236	NDKELgemidaPDENEALKRKIDaakm-pKEAKEKAEL-Q-KLKM	280		
n	563	-----	563		
pB	828	-----	828		
pB	837	-----	837		
		Конец α -домена			
		спираль $\alpha 4$			
pB	514	arfvrIEVtEE----DIAEIVS	537	rwtgip	
pB	524	mrllrnKVtDA----EIAEVL	547	Arwtgip	
n	281	mspmAEATVV---RGYIDW---MVgvp	302		
n	564	-slKHIEi--NGDNLHDYLG-----vqrf	584		
pB	829	-vkegdRVQVDvgpa-gLVFAvparvea	854		
pB	838	-lvpqkVIRLEvnedr-IVAVq	857		

Рисунок 3.

Сопоставление первичных и вторичных структур фрагмента (S^{119} - P^{302}) *EcLon*-протеиназы и α -доменов AAA⁺-модулей *EcLon*-протеиназы и шаперонов ClpB. Приведены аминокислотные последовательности $\alpha 1$ -доменов *TiClpB* и *EcClpB* [26] (строки 1 и 2), фрагмента (S^{119} - P^{302}) (выделен жирным шрифтом) и α -домена *EcLon* [13] (строки 3 и 4), $\alpha 2$ -доменов *TiClpB* и *EcClpB* [26] (строки 5 и 6). Прописными буквами отмечены аминокислоты, образующие элементы вторичной структуры: прямые обозначают α -спирали (подчёркнуты), курсивные - β -тяжи; строчными буквами отмечены аминокислоты, не включенные в элементы вторичной структуры. Серым цветом выделены остатки фрагмента (S^{119} - P^{302}) *EcLon*, гомологичные или подобные соответствующим остаткам одного или нескольких других α -доменов. Остатки предполагаемых мотивов типа "лейциновая застежка" [26] обведены рамками. Спираль $\alpha 1$ - $\alpha 4$ формируют α -домены, спирали CC- $\alpha 1$ - CC- $\alpha 4$ формируют coiled-coil-структуру M- или PL-доменов.

Для подтверждения справедливости выдвинутого предположения проведено сопоставление фрагмента (S^{119} – P^{302}) *EcLon*-протеиназы с истинными α -доменами AAA^+ -модулей собственно *EcLon* и $\alpha 2$ -доменами шаперонов ClpB, не имеющими вставочных фрагментов (рис. 3, строки 3-6). Следует отметить не только сохранение, но и увеличение степени гомологии при сопоставлении большего числа структур. Вывод остается справедливым и при введении в рассмотрение α -доменов AAA^+ -модулей протеиназ ClpAP, ClpXP и HslUV (на рис. 3 не показано), причем в этом случае доля остатков фрагмента (S^{119} – P^{302}), гомологичных или подобных соответствующим остаткам одного или нескольких других α -доменов, возрастает до 80%. Дополнительными аргументами в пользу обсуждаемой концепции служат неожиданно высокая степень подобия αN -домена и характеристического α -домена собственного AAA^+ -модуля *EcLon* (рис. 3, строки 3 и 4), а также сохранение локализации консенсусного элемента α -доменов AAA^+ -белков – остатка аргинина sensor-2 – в начале третьей спирали αN -домена. Изложенное позволяет считать, что фрагмент *EcLon*, включающий остатки 119–302, топологичен и подобен $\alpha 1$ -доменам *EcClpB* и *TtClpB* с включенными в них M-доменами.

Таким образом, в последовательность *EcLon* между N-доменом (а.о. 1-119) и AAA^+ -модулем (а.о. 302-584) внедрен аналог $\alpha 1$ -домена AAA^+ -1-модуля шаперона ClpB, содержащий вставочный пропеллероподобный домен. Тогда строение *EcLon*-протеиназы можно представить как последовательность соединенных N-домена, αN -домена с включенным в него PL-доменом, AAA^+ -модуля, содержащего NB- и α -домены, и, наконец, протеолитического Р-домена (рис. 2А). Нельзя не заметить совпадения общей организации фрагмента *EcLon*-протеиназы (а.о. 120–584), не включающего N-концевой и протеолитический домены, и шаперонов ClpB, с тем отличием, что в составе *EcLon* отсутствует первый нуклеотидсвязывающий домен (NB1-домен), имеющийся в ClpB. Важно при этом подчеркнуть, что собственно N-домены Lon-протеиназы и шаперонов не обнаруживают структурного сходства.

Выявленные особенности доменной организации *EcLon* можно распространить на весь пул протеиназ LonA (рис. 2Б), поскольку все ферменты подсемейства проявляют выраженное подобие 180-членных фрагментов последовательностей, предшествующих их AAA^+ -модулям. Однако следует принимать во внимание, что протяженность N-концевых сегментов большого количества эукариотических LonA-протеиназ значительно превышает размер N-домена *EcLon* (~120 а.о.), характерный для бактериальных LonA-протеиназ. В частности, N-концевые сегменты Lon дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и человека, содержат около 390 и 280 а.о., соответственно. Несмотря на возможное присутствие в их составе пролонгированной адресующей последовательности, N-концевые сегменты эукариотических LonA-протеиназ должны иметь специфическое для каждой подгруппы ферментов мультидоменное строение. Не исключено, что одним из потенциальных доменов N-концевого сегмента может оказаться домен, обладающий сходством с NB1-доменом шаперонов ClpB, но этот вопрос требует дальнейшего изучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Сопоставление первичных и вторичных структур различных протеиназ подсемейства LonA и шаперонов ClpB позволило выявить принципиальное устройство N-концевых частей LonA-протеиназ, характеризующееся обязательным присутствием включенного в αN -домен PL-домена, предположительно подобного M-домену шаперонов. При этом совокупность ранее полученных рентгеноструктурных данных для N-концевого β -структурированного домена *EcLon* (N-домен) и результатов проведенного анализа приводит к пониманию того, что N-концевая часть *EcLon* является вероятной комбинацией двух известных пространственных структур, существующих в других белках. Представленные данные также указывают

на тесное эволюционное родство АТР-зависимых протеиназ и шаперонов ClpB/Hsp104 и могут стать основой для поиска новых биологических функций ферментов подсемейства LonA.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 08-04-00977).

ЛИТЕРАТУРА

1. Sauer R.T., Bolon D.N., Burton B.M., Burton R.E., Flynn J.M., Grant R.A., Hersch G.L., Joshi S.A., Kenniston J.A., Levchenko I., Neher S.B., Oakes E.S., Siddiqui S.M., Wah D.A., Baker T.A. (2004) *Cell*, **119**, 9-18.
2. Bukau B., Weissman J., Horwich A. (2006) *Cell*, **125**, 443-451.
3. Neuwald A.F., Aravind L., Spouge J.L., Koonin E.V. (1999) *Genome Res.*, **9**, 27-43.
4. Америк А.Ю., Антонов В.К., Остроумова Н.И., Ротанова Т.В., Чистякова Л.Г. (1990) *Биоорг. химия*, **16**, 869-880.
5. Goldberg A.L., Moerschell R.P., Chung C.H., Maurizi M.R. (1994) *Methods Enzymol.*, **244**, 350-375.
6. Rotanova T.V., Melnikov E.E., Khalatova A.G., Makhovskaya O.V., Botos I., Wlodawer A., Gustchina A. (2004) *Eur. J. Biochem.*, **271**, 4865-4871.
7. Iyer L.M., Leipe D.D., Koonin E.V., Aravind L. (2004) *J. Struct. Biol.*, **146**, 11-31.
8. Lupas A.N., Martin J. (2002) *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **12**, 746-753.
9. Lupas A., Gruber M. (2005) *Adv. Prot. Chem.*, **70**, 37-78.
10. Ротанова Т.В. (2002) *Вопр. мед. химии*, **48**, 541-552.
11. Ротанова Т.В., Мельников Э.Э., Циркульников К.Б. (2003) *Биоорг. химия*, **29**, 97-99.
12. Botos I., Melnikov E.E., Cherry S., Tropea J., Khalatova A.G., Rasulova F.S., Dauter Z., Maurizi M.R., Rotanova T.V., Wlodawer A., Gustchina A. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 8140-8148.
13. Botos I., Melnikov E.E., Cherry S., Khalatova A.G., Rasulova F.S., Tropea J.E., Maurizi M.R., Rotanova T.V., Gustchina A., Wlodawer A. (2004) *J. Struct. Biol.*, **146**, 113-122.
14. Li M., Rasulova F., Melnikov E.E., Rotanova T.V., Gustchina A., Maurizi M.R., Wlodawer A. (2005) *Protein Sci.*, **14**, 2895-2900.
15. Botos I., Melnikov E.E., Cherry S., Kozlov S., Makhovskaya O.V., Tropea J., Gustchina A., Rotanova T.V., Wlodawer A. (2005) *J. Mol. Biol.*, **351**, 144-157.
16. Im Y.J., Na Y., Kang G.B., Rho S.H., Kim M.K., Lee J.H., Chung C.H., Eom S.H. (2004) *J. Biol. Chem.* **279**, 53451-53457.
17. Smith C.K., Baker T.A., Sauer R.T. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 6678-6682.
18. Lee A.Y., Hsu C.H., Wu S.H. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 34903-34912.
19. Melnikov E.E., Andrianova A.G., Morozkin A.D., Stepnov A.A., Makhovskaya O.V., Botos I., Gustchina A., Wlodawer A., Rotanova T.V. (2008) *Acta Biochim. Pol.*, **55**, 281-296.
20. Chir J.L., Liao J.H., Lin Y.C., Wu S.H. (2009) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **382**, 762-765.
21. Ebel W., Skinner M.M., Dierksen K.P., Scott J.M., Trempy J.E. (1999) *J. Bacteriol.*, **181**, 2236-2243.
22. Liberek K., Lewandowska A., Zietkiewicz S. (2008) *EMBO J.*, **27**, 328-335.
23. Saibil H.R. (2008) *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **18**, 35-42.
24. Genevaux P., Georgopoulos C., Kelley W.L. (2007) *Mol. Microbiol.*, **66**, 840-857.
25. Schirmer E.C., Glover J.R., Singer M.A., Lindquist S. (1996) *Trends Biochem. Sci.*, **21**, 289-296.
26. Lee S., Sowa M.E., Watanabe Y.H., Sigler P.B., Chiu W., Yoshida M., Tsai F.T. (2003) *Cell*, **115**, 229-240.

27. Watanabe Y.H., Nakazaki Y., Suno R., Yoshida M. (2009) Biochem. J., **421**, 71-77.
28. Doyle S.M., Wickner S. (2009) Trends Biochem. Sci., **34**, 40-48.

Поступила: 26. 02. 2010.

NOVEL VIEW OF THE ARCHITECTURE OF THE NON-CATALYTIC N-TERMINAL
REGION OF ATP-DEPENDENT LonA PROTEASES

T.V. Rotanova, E.E. Melnikov

Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
ul. Miklukho-Maklaya, 16/10, 117997 GSP, V-437, Moscow, Russia; tel.: +7 (495) 335-4222;
e-mail: rotanova@enzyme.sioc.ras.ru

ATP-Dependent Lon proteases are components of the protein quality control system, which maintains a keeping of cellular proteome. Lon family consists of two subfamilies A and B, differing in subunit architecture and intracellular location. The reinterpretation of the domain organization of the non-catalytic N-terminal region of ATP-dependent LonA proteases is proposed. Using *Escherichia coli* LonA protease (*EcLon*) as an example it has been shown that a fragment (α N-domain), which is located between the N-terminal domain and the AAA⁺ module of that protein, is similar to the α 1-domain of the first AAA⁺ module of chaperone-disaggregase ClpB. A coiled-coil (CC) region included in the α N-domain of LonA is similar to the M domain of ClpB chaperones, which is inserted into the α 1-domain. This region is suggested to adopt the structure similar to the propeller-like (PL) domain. The typical architecture of the N-terminal region of LonA proteases is postulated to be characterized by the obligatory presence of a PL domain, included in the α N-domain, but may vary in the length and topology of the preceding N-terminal domain.

Key words: AAA⁺ proteins, ATP-dependent proteolysis, Lon protease, ClpB chaperones, propeller-like domain, coiled-coil region.