

НАИБОЛЕЕ ВЕРОЯТНЫЙ САЙТ СВЯЗЫВАНИЯ КАТИОНОВ С БОЛЬШИМ ПРИОННЫМ БЕЛКОМ ЧЕЛОВЕКА

Побойнев В.В., Барковский Е.В., Хрусталёв В.В., Хрусталёва Т.А.

¹Белорусский государственный медицинский университет,
кафедра общей химии, г. Минск

²Институт физиологии НАН Беларуси,
лаборатория клеточных технологий, г. Минск

Ключевые слова: сайт связывания, большой прионный белок человека, катионы металлов, глутаминовая кислота, структурный переход.

Резюме: в статье охарактеризован наиболее вероятный неспецифический сайт связывания катионов на большом прионном белке человека, описан возможный механизм перехода большого прионного белка человека в бета-структурное состояние в результате связывания катионов с этим сайтом.

Resume: the most probable nonspecific binding site for cations on major human prion protein has been characterized in this paper, possible mechanism of structural transition to beta-sheet state as a result of cations' binding to major human prion protein has been described.

Актуальность. Механизмы образования бета-амилоида при прионных заболеваниях до сих пор не установлены [1]. Однако известны работы, в которых указывают на существенную роль процесса связывания катионов металлов в осуществлении перехода от нормального (преимущественно альфа-спирального) прионного белка к патологическому (преимущественно бета-структурному) [2]. В большинстве исследований внимание концентрируется на координации катионов остатками гистидина из тандемных повторов в той части прионного белка, строение которой невозможно изучить с помощью рентгеноструктурного анализа или методом ядерно-магнитного резонанса [2].

Поскольку трёхмерная структура прионного белка в бета-структурном состоянии до сих пор не получена, можно лишь с той или иной долей вероятности предполагать, какие именно его фрагменты склонны к образованию бета-тяжей в силу особенностей своего аминокислотного состава. Одним из таких фрагментов является вторая альфа-спираль и N-концевая половина третьей альфа-спирали [3]. Согласно результатам работы алгоритмов, основанных на вероятностных шкалах, именно в этом районе прионного белка предсказывается бета-структура [3]. Однако вторая альфа-спираль сама по себе не может перейти в бета-структурное состояние: пептиды, соответствующие второй альфа-спирали (2IV4, 2IV5), сохраняют свою вторичную структуру. Вполне вероятно, что для структурного перехода второй альфа-спирали в бета-тяж необходимо взаимодействие с другим фрагментом белка, в частности, с гидрофобным консервативным фрагментом 113 – 120, который, по

данным рентгеноструктурного анализа, может переходить в бета-структурное состояние [4]. Для такого взаимодействия необходимо изменить взаимное расположение второй и третьей альфа-спиралей. Одним из факторов, способных вызвать изменения взаимного расположения атомов в белках, является связывание лигандов, в том числе, катионов металлов [5].

На различных белках можно обнаружить как специфические (необходимые для осуществления каталитической функции) сайты связывания катионов металлов, так и неспецифические [6]. Специфические для данного вида ионов сайты связывания и прилегающие к ним области отличаются особенностями аминокислотного состава и вторичной структуры [5]. Неспецифические сайты могут связывать различные катионы исключительно за счёт полярных взаимодействий (в том случае, если данный участок белка богат аминокислотами с отрицательно заряженными боковыми цепями). Кроме того, катионы могут быть скоординированы теми анионами, которые уже образовались с белком [5].

Цель: установить наиболее вероятный неспецифический сайт связывания катионов на структурированной части большого прионного белка и выявить возможные механизмы изменения его третичной структуры при взаимодействии с катионами.

Задачи: 1. Предсказать наиболее вероятный сайт связывания катионов на большом прионном белке человека. 2. Выявить типы взаимодействий, в которые вовлечены аминокислотные остатки, образующие наиболее вероятный сайт связывания катионов.

Материалы и методы. В качестве материала для *insilico* экспериментов в данной работе была использована третичная структура большого прионного белка человека. Идентификатор данной структуры в ProteinDataBank – 1HJM. Для определения сайтов связывания анионов и катионов был использован сервер BION [6]. Сервер BION создан для предсказания исключительно неспецифических сайтов связывания катионов и анионов на трёхмерных структурах белков. Алгоритм BION добавляет в PDB файл с описанием координат атомов белка запись о гетероатомах – соответствующих ионах. Для вычисления расстояний между ионом (гетероатомом) и атомами аминокислот использовался оригинальный алгоритм «BIONdistances». Также в данной работе использовался оригинальный алгоритм «PDBINTERACTIONS». Этот алгоритм определяет расстояния между заданным атомом аминокислоты в пределах указанной дистанции соседними атомами (при их наличии) на основании координат из PDB файла.

Результаты и их обсуждение.

Установлено, что общим наиболее вероятным сайтом связывания для катионов Be^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Ca^{2+} , Na^{+} и K^{+} является остаток глутаминовой кислоты под номером 207 (Glu207), находящийся на N-конце третьей альфа-спирали большого прионного белка человека.

Катион металла, по результатам BION, располагается на расстоянии 2,33 Å от одного из атомов кислорода Glu207, расстояние до второго атома кислорода – 3,58 Å. Глутаминовая кислота обычно классифицируется как аминокислота с гидрофильной боковой цепью. Однако помимо гидрофильной карбоксильной

группы боковая цепь этой аминокислоты содержит гидрофобную часть (-CH₂-CH₂-), которая может участвовать в гидрофобных взаимодействиях с боковыми цепями других аминокислот.

Следует уточнить, что вторая и третья альфа-спирали большого прионного белка связаны друг с другом за счёт нескольких гидрофобных контактов и одной дисульфидной связи. Вполне вероятно, что гидрофобные контакты не просто связывают друг с другом эти фрагменты белка, а способствуют образованию ими альфа-спиралей. Теоретически, разрушение гидрофобных контактов между второй и третьей альфа-спиралями может приводить к переходу в бета-структурное состояние третьей альфа-спирали.

Действительно, можно выделить три аминокислотных остатка из второй спирали (Ile184, Val180 и Val176), которые образуют большое количество гидрофобных контактов с аминокислотными остатками из третьей спирали (см. рис.1). На расстоянии до 5 Å от концевого атома углерода боковой цепи Ile184 находятся атомы углерода Val203 (4,99 Å), Met206 (3,65 и 4,93 Å), Val210 (4,27, 4,62 и 4,29 Å) и Glu207 (4,05 и 3,54 Å). Получается, что наиболее тесный гидрофобный контакт с Ile184 образует гидрофобная часть боковой цепи Glu207.

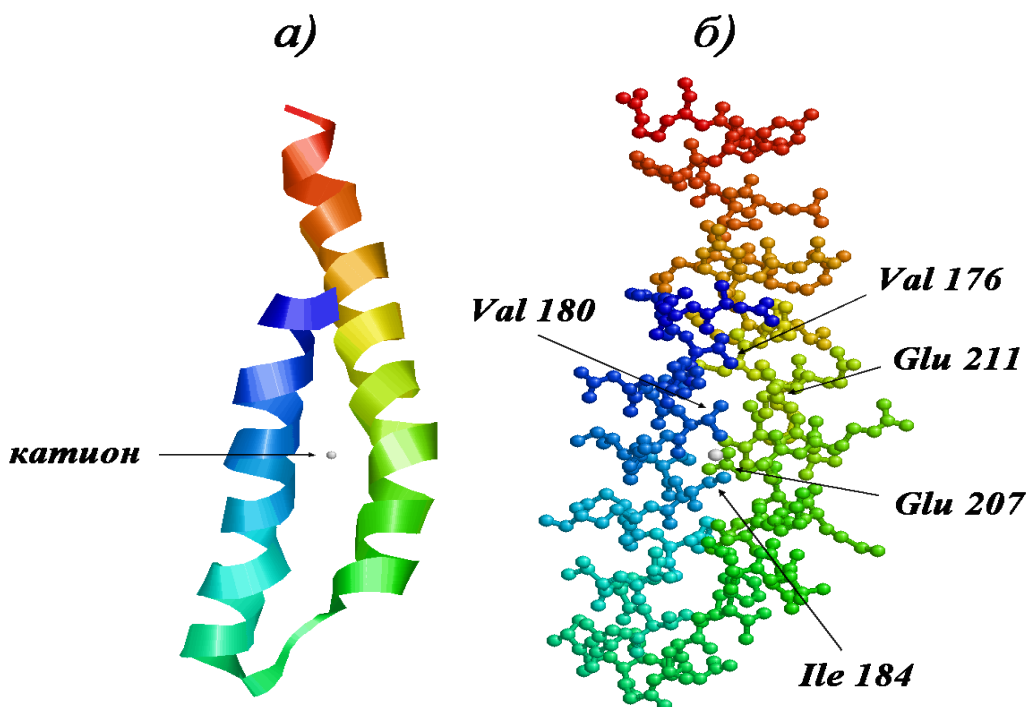


Рис. 1 – Наиболее вероятный сайт связывания катионов на большом прионном белке человека (показан фрагмент белка, содержащий вторую и третью альфа-спирали) с иллюстрацией вторичной структуры (а) и взаимного расположения атомов углерода, кислорода, серы и азота (б)

Один из концевых атомов углерода Val180 образует гидрофобные контакты с атомами углерода Glu207 (4,63 и 4,72 Å), Val210 (3,87, 3,77 и 4,98 Å) и Glu211 (4,93 и 4,53 Å). Вторым концевым атомом углерода Val180 образует гидрофобные контакты с Val210 (4,35 и 3,90 Å), Glu211 (4,00 и 3,82 Å) и Cys214 (4,29 Å). Один из концевых

атомов углерода Val176 также образует гидрофобные контакты с атомами углерода из бокового радикала Glu211 (4,11 и 3,87 Å). Следует отметить, что большую роль в образовании контактов между второй и третьей спиралями играет не только Glu207, но и Glu211. Атомы кислорода этих двух остатков глутаминовой кислоты расположены на расстоянии до 6 Å друг от друга, что даёт основание предположить возможность их совместного участия в координации катионов.

В результате связывания катиона с карбоксильной группой остатка Glu207 или с карбоксильными группами остатков Glu207 и Glu211 возможно возникновение локальных изменений в расположении боковых цепей этих аминокислот (они могут приблизиться друг к другу и отдалиться от гидрофобных боковых цепей Ile184, Val180 и Val176). Изменения конформации такого рода могут приводить к ослаблению или исчезновению гидрофобных контактов между аминокислотными остатками из второй и третьей альфа-спиралей. После этого становится возможным формирование бета-структуры непосредственно на месте второй и третьей альфа-спиралей. Возможен и вариант, при котором вторая или третья спираль становится более доступной для образования бета-структуры с гидрофобным фрагментом 113 – 120. Для дальнейшего исследования механизмов перехода прионного белка в бета-структурное состояние в результате связывания катионов необходимо провести эксперименты *invitro* химически синтезированным пептидом, содержащим вторую и третью альфа-спирали.

Выводы: 1. Наиболее вероятным неспецифическим сайтом связывания катионов на большом прионном белке человека является остаток Glu207, находящийся в непосредственной близости от остатка Glu211. 2. Атомы углерода из боковых цепей Glu207 и Glu211 вносят значительный вклад в образование гидрофобных контактов между второй и третьей альфа-спиралями большого прионного белка человека. 3. Связывание катионов с остатками Glu207 и Glu211 может ослаблять гидрофобные контакты между второй и третьей альфа-спиралями, способствуя переходу прионного белка в бета-структурную форму.

Литература

1. Побойнев, В. В. Сайты связывания катионов и анионов в большом прионном белке человека / В. В. Побойнев // Сборник материалов 68-й научно-практической конференции студентов и молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2014». – 2014. – С. 1.10.3.

2. Migliorini, C. Copper-induced structural propensities of the amyloidogenic region of human prion protein / C. Migliorini, A. Sinicropi, H. Kozlowski, M. Luczkowski, D. Valensin // J. Biol. Inorg. Chem. – 2014. – Vol. 19. – P. 635-645.

3. Chen, J. Helices 2 and 3 are the initiation sites in the PrP(C) → PrP(SC) transition / J. Chen, D. Thirumalai // Biochemistry. – 2013. – Vol. 52. – P. 310-319.

4. Abskharon, R. N. Probing the N-terminal β -sheet conversion in the crystal structure of the human prion protein bound to an antibody / R. N. Abskharon, G. Giachin, A. Wohlkonig, S. H. Soror, E. Pardon, G. Legname, J. Steyaert // J. Am. Chem. Soc. – 2014. – Vol. 136. – P. 937-944.

5. Khrustaleva, T. A. Secondary structure preferences of Mn²⁺ binding sites in bacterial proteins / T. A. Khrustaleva // Advances in Bioinformatics. – 2014. – Article ID 501841. – P. 1-14.

6. Petukh, M. Predicting nonspecific ion binding using DelPhi / M. Petukh, M. Zhenirovskyy, C. Li, L. Li, L. Wang, E. Alexov // Biophys. J. – 2012. – Vol. 102. – P. 2885–2893.