

Хрусталёва Т.А.¹, Попинако А.В.², Хрусталёв В.В.³, Побойнев В.В.³

Вторичная структура белка-предшественника бета-амилоидных пептидов в районе сайта связывания с бета-секретазой по результатам работы алгоритма PentaFOLD 3.0

¹ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

²ФИБ «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Российская Федерация

³УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Республика Беларусь

Актуальность. Поиск эффективных препаратов для борьбы с болезнью Альцгеймера на данный момент не увенчался успехом. Основным этапом в патогенезе этого заболевания считается преимущественный протеолиз белка-предшественника амилоидных пептидов в его надмембранной части с помощью бета-секретазы, в отличие от альфа-секретазы, фрагментирующей в области вблизи внешней поверхности мембраны (неамилоидогенный путь протеолиза). Гамма-секретаса «разрезает» тот же белок в трансмембранной части. Образующиеся в результате амилоидогенного протеолиза бета-амилоидные пептиды, содержащие гидрофобный фрагмент трансмембранного домена, агрегируют за счёт формирования межмолекулярной бета-структуры. Если структурные исследования амилоидных пептидов весьма многочисленны, но неоднозначны, то вторичная структура сайта связывания белка-предшественника с бета-секретазой до сих пор неизвестна.

Цель: оценить возможность образования вторичной структуры в районе сайта связывания белка-предшественника бета-амилоидных пептидов с бета-секретазой.

Материалы и методы. В качестве материала использовали аминокислотную последовательность белка-предшественника бета-амилоидных пептидов (UniProt ID: P05067). Вторичную структуру предсказывали с помощью оригинального алгоритма PentaFOLD 3.0 (<http://chemres.bsmu.by/PentaFOLD30.htm>), основанного на вероятностных шкалах: аминокислотной, дипептидных и пентапептидной. В последней шкале 20 аминокислотных остатков проклассифицированы на гидрофильные и гидрофобные. Алгоритм оценивает вторичную структуру по аминокислотной и пентапептидной шкалам, а также по альфа-спиральному и бета-структурному паттернам – с использованием дипептидных шкал.

Результаты. По аминокислотной шкале алгоритма PentaFOLD 3.0 было предсказано, что вероятный сайт связывания белка-предшественника бета-амилоидных пептидов с бета-секретазой нахо-

дится в составе короткой альфа-спирали: 669-VKMDAEF-675. По пентапептидной шкале того же алгоритма в районе сайта протеолиза (671/672) находится бета-тяж: 670-KMDAE-674. При использовании альфа-спирального паттерна для предсказаний интересующий нас фрагмент белка входит в состав С-концевой части длинной альфа-спирали (661-IKTEEISEVKMDAEF-675), а при использовании бета-структурного паттерна находится в составе короткого бета-тяжа (671-MDAE-674).

Такие результаты обусловлены наличием в исследуемой последовательности аминокислотных остатков, преимущественно формирующих альфа-спирали: Ala, Glu, Met, Lys. При этом гидрофильные и гидрофобные аминокислотные остатки на участке 668-EVKMDAEFR-676 чередуются через один, что характерно для бета-тяжей, находящихся на поверхности белков. Кроме того – на данном участке есть и остатки, предпочтительно образующие бета-структуру: Val и Phe.

Неоднозначность предсказаний заставляет задуматься над тем, не является ли данная область белка склонной к альфа-бета переходам. Следует отметить, что в последовательности самих бета-амилоидных пептидов алгоритм по обоим шкалам и обоим паттернам предсказывает бета-тяж от остатка 701 до остатка 713 – в трансмембранном домене. В середине же последовательности бета-амилоидных пептидов (остатки 682 – 693) алгоритм предсказывает возможность формирования как альфа-спирали, так и бета-структуры. Эти неоднозначные предсказания находят своё подтверждение по результатам ЯМР. Альфа-спираль или две короткие альфа-спирали присутствуют в этой области на структурах: 1AMB, 1AMC, 1AML, 1BA4, 1BA6, 1BJB, 1BJC, 1JYT, 1Z0Q и др. (здесь и далее структуры белка обозначены в соответствии с идентификатором PDBID). Та же самая область образует бета-тяж на структурах: 2BEG, 2LMN, 2LMO, 2LMP, 2LMQ, 2LNQ, 2MPZ и др.

Выводы. Для разработки препаратов, способных блокировать сайт связывания белка-предшественника бета-амилоидных пептидов с бета-секретазой необходимо установить его вторичную структуру *in vitro* с помощью спектроскопии кругового дихроизма соответствующего пептида в водном растворе, оценить стабильность такой структуры с помощью методов молекулярной динамики.