

Побойнев В.В.¹, Кордюкова Л.В.², Хрусталёв В.В.¹, Хрусталёва Т.А.^{1,3}
Структурная нестабильность подмембранной части гемагглютинина вируса гриппа типа А

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

²НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ,
Москва, Российская Федерация

³ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Подмембранная часть гемагглютинина вирусов гриппа типа А является очень короткой: 13-15 аминокислотных остатков. При этом данный фрагмент гемагглютинина важен для продукции полноценных вирионов, в связи с чем может считаться подходящей мишенью для разработки новых противовирусных средств не только по причине возможного участия в формировании трансмембранной поры для проникновения вируса в цитоплазму, но и по причине непосредственного взаимодействия с матричным белком вируса М1. Ранее мы показали, что пептиды, соответствующие подмембранной части гемагглютинина подтипа Н1, согласно данным спектрометрии кругового дихроизма и НАTR-FTIR, способны формировать бета-шпильку, состоящую как минимум из двух бета-тяжей длиной в два аминокислотных остатка [1], однако с матричным белком М1 должен контактировать гидрофильный фрагмент подмембранной части.

Цель данного исследования заключается в определении структурной стабильности подмембранной части гемагглютинина вируса гриппа типа А разных антигенных подтипов.

Материалы и методы исследования. Для установления стабильности структуры подмембранной части гемагглютинина апробированы два различных подхода: на базе стандартной программы DisEMBL 1.5 и на базе оригинального алгоритма PentUNFold, разработанного

нашей научной группой. Использование алгоритма PentUNFold обусловлено тем, что только данный алгоритм не оперирует информацией о структурной неустойчивости N- и C-концов белков, а опирается на вероятностные шкалы для неустойчивых регионов из середины полипептидов. При этом большая часть известных внутренне неупорядоченных фрагментов белков находится именно на концах. Использовано по 5 случайных последовательностей для подтипов гемагглютинаина H1-H16 и по две известные последовательности для подтипов H17 и H18 из GenBank. Таким образом, для оценки стабильности вторичной структуры использованы 84 последовательности гемагглютинаина H1-H18.

Результаты. При рассмотрении стабильности структуры подмембранной части гемагглютинаина вируса гриппа типа А длиной в 15 аминокислотных остатков с помощью DisEMBL 1.5, оказалось, что только первые 5 остатков могут формировать упорядоченную структуру у различных подтипов. Середина и C-конец подмембранной части являются структурно неупорядоченными вне зависимости от подтипа гемагглютинаина. Для гемагглютинаина H6 и H8 характерно полное отсутствие упорядоченной структуры согласно DisEMBL 1.5. В составе H12 только один аминокислотный остаток является стабильным, в составе H11, H16, H17 – 2, в составе H1, H2, H5, H10, H13, H14, H18 – 3, в H3, H4, H7, H9, H15 – 4. Под структурной стабильностью в данном случае имеется ввиду способность фрагментов белка находиться в определённом одинаковом структурном состоянии, а не во множестве состояний с близкой вероятностью образования. По всей видимости, на результаты работы DisEMBL 1.5 большое влияние оказал тот факт, что рассматриваемый домен гемагглютинаина находится на его C-конце.

С помощью оригинального алгоритма PentUNFold получены иные данные: для всех подтипов гемагглютинаина, кроме H3, характерна упорядоченная структура подмембранной части, т.е. аминокислотные остатки входят в состав регулярных элементов вторичной структуры. Только в гемагглютинаине H3 возможно формирование внутренне неупорядоченного состояния. Причём, аминокислотой, непосредственно находящейся в этом состоянии, является Asn8, т.е. аминокислота, следующая за шарнирным Gly7. Отдельно PentUNFold рассматривает возможность структурного перехода от койла (ни альфа-спирали, ни бета-тяжа) к бета-тяжу и обратно: т.е., возможность существования фрагмента белка в двух, а не во множестве структурных состояний. Остатки, склонные к таким структурным переходам, были выявлены у большинства подтипов гемагглютинаина: таковые входят в

состав первого пассивного бета-тяжа на N-конце (чаще все его остатки) и второго, активного, бета-тяжа на C-конце (чаще один остаток). Длина второго бета-тяжа может варьировать от двух до пяти аминокислотных остатков, причём последние два всегда являются стабильными вне зависимости от подтипа гемагглютинина. В гемагглютинине H12, H15, H17, согласно PentUNFold, два бета-тяжа абсолютно стабильны.

Выводы. Таким образом, в подмембранной части гемагглютинина вируса гриппа возможны структурные переходы от койла к бета-тяжам и наоборот. Причины данных переходов могут быть разными: изменение рН среды, мутации или взаимодействие с белком M1 при сборке дочерних вирионов. Однако поиск потенциальных блокаторов такого взаимодействия с целью подавления вирусного патогенеза необходимо вести в зависимости от подтипа гемагглютинина, входящего в состав вируса. Способность подмембранного домена H3 переходить во внутренне неупорядоченное состояние может давать возможность формирования отличной по сравнению с другими подтипами гемагглютинина вторичной и третичной структуры комплекса между подмембранным доменом и белком M1; также, как и наличие стабильных бета-тяжей в H12, H15, H17, которые могут снизить лабильность гидрофильной части подмембранного домена гемагглютинина.

Литература

1. V. V. Khrustalev, L. V. Kordyukova, A. M. Arutyunyan, V. V. Poboinev, T. A. Khrustaleva, A. N. Stojarov, L. A. Baratova, A. S. Sapon, V. G. Lugin. The cytoplasmic tail of influenza A/H1N1 virus hemagglutinin is β -structural. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2020. Doi: 10.1080/07391102.2020.1860827.