

Структура и динамика LU домена белка – регулятора эмбриогенеза Lypd6 по данным ЯМР-спектроскопииА.В. Царев^{1,2}, А.С. Парамонов^{2,3}, Д.С. Кульбацкий^{2,3}, А.С. Арсеньев^{1,2}, Е.Н. Люкманова^{2,3},
З.О. Шенкарев^{1,2}¹Московский Физико-Технический Институт, Долгопрудный, Россия.²Институт биоорганической химии им. Шемякина и Овчинникова, Москва, Россия.³Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия.

Белки, принадлежащие к семейству Lуб/uPAR, обнаружены в организмах различных животных, от насекомых до рептилий и человека. Они играют важную роль в работе нервной и иммунной систем организма, а также принимают участие в межклеточных взаимодействиях, контролируя пролиферацию, миграцию и активацию клеток эпителия и иммунной системы. Сравнительно хорошо изучена роль некоторых Lуб/uPAR белков, модулирующих активность никотиновых ацетилхолиновых рецепторов (nAХР). Lуб/uPAR белки характеризуются наличием «трёхпетельного» LU-домена (60-80 а.о.), образованного β-структурным ядром (два листа, пять тяжей) и тремя длинными петлевыми участками. Ядро LU-домена стабилизировано четырьмя консервативными дисульфидными связями. Подобная пространственная организация схожа со структурой нейротоксинов из ядов змей. Белок Lypd6 из семейства Lуб/uPAR участвует в эмбриогенезе и развитии рака, модулируя активность Wnt/β-cathenin каскада и, возможно, взаимодействуя с nAХР. Дупликация гена, кодирующего Lypd6, приводит к аутизму. Lypd6 прикреплен к мембране с помощью GPI-якоря и наряду с LU-доменом содержит дополнительные N- с C-концевые участки. Исследование структуры и механизмов действия Lypd6 и других Lуб/uPAR белков человека может помочь при создании новых лекарственных препаратов.

В работе методом гетероядерной ЯМР-спектроскопии исследовали структуру и динамику LU-домена домена белка Lypd6. Используя ¹³C, ¹⁵N-меченный рекомбинантный аналог LU-домена и набор 3D ЯМР экспериментов, в водном растворе при рН 7.0 было получено отнесение сигналов основной и боковых цепей для большинства остатков белка. По данным химических сдвигов ядер ¹H^N, ¹H^α, ¹³C^α, ¹³C^γ, ¹³C^β и констант спин-спинового взаимодействия ³J_{HNH^α} была определена вторичная структура домена. Показано, что вторичная структура Lypd6 в целом соответствует известным структурам «трёхпетельных» токсинов яда змей и других Lуб/uPAR белков. Структура Lypd6 включает в себя β-лист, состоящий из трех антипараллельных тяжей образованных остатками петель II и III. Однако, β-лист, сформированный остатками петли I в случае Lypd6 значительно укорочен. Также было обнаружено, что C-концевой фрагмент молекулы (остатки 87-95) имеет две конформации в растворе, которые, вероятно, обусловлены изомеризацией пептидной связи Leu85-Pro86. Процесс конформационного обмена между этими состояниями идет с характерными временами, превышающими 100 мс. По данным релаксации ядер ¹⁵N (скорости продольной и поперечной релаксации R1 и R2, а также ¹⁵N-¹H-NOE) была изучена внутримолекулярная динамика Lypd6. В отличие от других Lуб/uPAR белков человека петлевые участки Lypd6 не демонстрируют значительных движений в пико- и наносекундном диапазоне времен. Повышенная динамика в этом диапазоне наблюдалась только для C-концевого фрагмента одного из конформеров белка. Таким образом, *cis*-/*trans*-изомерия пептидной связи Leu85-Pro86 влияет не только на структуру, но и на динамику белка в растворе.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 15-04-99517.