

УДК 577

ИССЛЕДОВАНИЕ АВТОНОМНОЙ СТАБИЛЬНОСТИ SH3-ДОМЕНА

К.С. Никольский, Л.И. Куликова, Д.В. Петровский, В.Р. Руднев, А.Л. Кайшева

Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва, Россия

Работа посвящена исследованию автономной стабильности пространственно компактного SH3-домена, который широко представлен в белках всех живых организмов. SH3-домен характеризуется β -бочкообразной укладкой полипептидной цепи в пространстве, состоит из пяти или шести β -тяжей, которые организованы в два плотно упакованных антипараллельных β -слоя. Структурный мотив имеет длину около 60 аминокислот. Длина нерегулярных участков между β -тяжами варьирует от 2 до 24 аминокислот. Нерегулярные участки могут содержать виток α - или 3_{10} -спирали. Длины β -тяжей также варьируют. Характерной особенностью структурного мотива является ярко выраженное гидрофобное ядро, которое стабилизировано водородными и гидрофобными взаимодействиями. На рисунке 1 изображен типичный представитель SH3-домена в нескольких ракурсах.

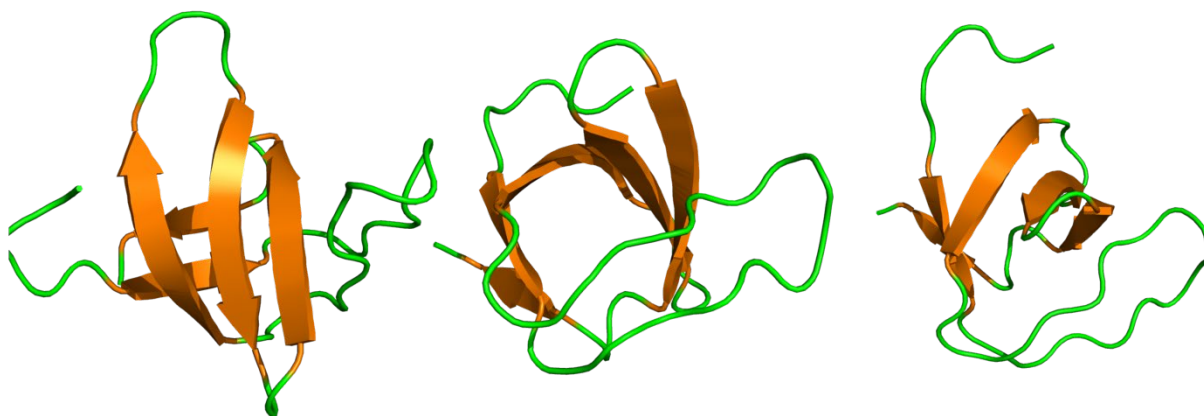


Рисунок 1. Изображения структурного мотива SH3-домен в факторе обмена гуаниновых нуклеотидов $\rho 7$ (PDB ID 2ESW, цепь A) с разных ракурсов. Оранжевым цветом выделены β -тяжи, зеленым – нерегулярные участки между β -тяжами (перетяжки)

В природе SH3-домены широко представлены как в малых, так и в среднеразмерных и крупных гомологичных и негомологичных белках различных живых организмов. SH3-домены встречаются в белках актинового цитоскелета, являются участниками различных сигнальных путей, включая регуляцию клеточного роста, эндоцитоз [1–5]. SH3-домен активно используется в решении задач биоинженерии в качестве «строительного блока» при создании искусственных ферментов [6]. В области биомедицины – в разработке белков для васкулярной маркировки опухолей [7], контроля активности лизоцима [8].

Всестороннее исследование этого структурного мотива является важной задачей: необходимо определить особенности пространственной организации, внутренних контактов и автономную стабильность мотива вне белкового окружения.

С использованием методов искусственного интеллекта выявлены и аннотированы 1914 белков различного размера, содержащих в своем составе исследуемый структурный мотив.

С целью обоснования автономной стабильности мотива были проведены эксперименты молекулярной динамики (МД) в трех температурных режимах (300K, 340K и 370K): малых белков, имеющих пространственную укладку этого мотива; целых белков, содержащих в своем составе исследуемую укладку; автономных мотивов вне белкового окружения.

Проведен анализ основных характеристик стабильности структур: радиус гирации, площадь, доступная на растворитель (SASA), количество гидрофобных связей, количество водородных контактов и среднеквадратичное отклонение C_{α} -атомов (RMSD). Также вычислялись значения среднеквадратичных отклонений для C_{α} -атомов на протяжении траектории (RMSF).

Проведенные исследования с малыми белками, имеющими пространственную укладку SH3-доменов, показали стабильность этих белков. Поведение мотивов в белковом окружении в ходе МД по всем показателям также демонстрирует устойчивость исследуемого мотива. Поведение автономных SH3-доменов (предварительно экстрагированных из средне- и крупноразмерных белков) свидетельствует также в пользу сохранности пространственной структуры. Для подавляющего количества автономно участвовавших в эксперименте молекулярной динамики структур среднее значение RMSD при температуре 300K не превышает 2 Å (RMSD < 2 Å), а при температурах 340K и 370K – не превышает значений, определенных в рамках экспериментов с целыми белками, содержащих в своем составе исследуемую укладку [9].

Нами также показано, что наибольшую мобильность в составе мотива имеют неструктурированные участки, в то время как β-тяжи сохраняют регулярную структуру и пространственную ориентацию даже при высоких температурах (см. таблица 1).

Таблица 1. Значения RMSF для элементов вторичной структуры в составе SH3-домена, исследованных автономно (вне белка).

Температура	Ср.зн. RMSF для нестр. уч., Å	RMSF нестр. уч. станд. откл	Ср.зн. RMSF для β-тяжей, Å	RMSF β-тяжей, станд. откл
300K	1,39	0,8	0,69	0,18
340K	1,69	0,75	0,9	0,28
370K	2,53	2,19	1,15	0,66

Из таблицы 1 видим, что средние значения RMSF для аминокислотных остатков, образующих β-тяжи, значительно меньше средних значений RMSF для аминокислотных остатков в составе неструктурированных участков. При этом разброс значений (определяемый по стандартному отклонению) для β-тяжей существенно ниже, чем для неструктурированных фрагментов.

Таким образом, результаты исследования показывают, что исследуемый структурный мотив автономно стабилен (вне белкового окружения) в водной среде, что позволяет рассматривать его в качестве самостоятельного структурного блока для решения широкого круга теоретических и практических задач.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных исследований Российской Федерации на долгосрочный период 2021–2030 гг. (№122092200056–9).

Литература

1. Teyra, J., Huang, H., Jain, S., Guan, X., Dong, A., et al. Comprehensive Analysis of the Human SH3 Domain Family Reveals a Wide Variety of Non-Canonical Specificities. *Structure* **2017**, 25 (10), 1598–1610.e3. <https://doi.org/10.1016/j.str.2017.07.017>.
2. Morton, C.J., Campbell, I.D. SH3 Domains. Molecular “Velcro.” *Curr Biol* **1994**, 4 (7), 615–617. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(00\)00134-2](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(00)00134-2).
3. Schlessinger, J. SH2/SH3 Signaling Proteins. *Current Opinion in Genetics & Development* **1994**, 4 (1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/0959-437X\(94\)90087-6](https://doi.org/10.1016/0959-437X(94)90087-6).
4. Koch, C.A., Anderson, D., Moran, M.F., Ellis, C., Pawson, T. SH2 and SH3 Domains: Elements That Control Interactions of Cytoplasmic Signaling Proteins. *Science* **1991**, 252(5006), 668–674. <https://doi.org/10.1126/science.1708916>.
5. Kishan, K.V., Agrawal V. SH3-like fold proteins are structurally conserved and functionally divergent. *Curr Protein Pept Sci*. **2005**. 6(2):143–50. doi: 10.2174/1389203053545444.
6. Horn Anselm, H.C., Sticht Heinrich. Synthetic Protein Scaffolds Based on Peptide Motifs and Cognate Adaptor Domains for Improving Metabolic Productivity. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* **2015**. 3, 2296–4185. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2015.00191>.
7. Grabulovski, D., Kaspar, M., Neri, D. A novel, non-immunogenic Fyn SH3-derived binding protein with tumor vascular targeting properties. *The Journal of Biological Chemistry*. **2007**. 282(5):3196–3204. doi: 10.1074/jbc.m609211200.
8. Elizabeth, Pham, Kevin, Truong. Engineered regulation of lysozyme by the SH3-CB1 binding interaction. *Protein Engineering, Design and Selection*. **2012**. 25(6): 307–311, <https://doi.org/10.1093/protein/gzs020>.
9. Nikolsky, K.S. et al. Three-helix bundle and SH3-type barrels: autonomously stable structural motifs in small and large proteins. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. **2023**. <https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2250450>.