

Исследование влияния дисульфидных связей на структуру четвертого экстремембранного домена натрий-зависимого фосфатного транспортера NaPi2b

Научный руководитель – Акберова Наталья Ивановна

Козлова Анастасия Сергеевна

Студент (магистр)

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия

E-mail: hellgatedoctor@yandex.com

Натрий зависимый фосфатный транспортер 2b (NaPi2b) - мембранный белок, который участвует в переносе фосфатов [n1], экспрессируется в ряде нормальных и опухолевых тканей и служит мишенью для антител MX35 [n2, n3]. В присутствии сульфид-редуцирующих агентов блокируется взаимодействие NaPi2b с антителами MX35. Антитела MX35 распознают эпитоп (312-338aa), который располагается в четвертом экстремембранном домене NaPi2b (EMD4) (234-362 aa) и имеет 4 цистеина, предположительно образующих дисульфидные связи [n2]. Для изучения влияния дисульфидных связей на структуру второго внеклеточного домена (EMD4) была предсказана структура EMD4 и проведен сравнительный анализ EMD4, EMD4 с дисульфидной связью 303-350 и EMD4 с дисульфидной связью 322-328 методом молекулярной динамики.

Для определения границ EMD4 NaPi2b использовали базу данных Uniprot и программу CSTOP. Для предсказания трехмерной структуры использовали подход de novo с помощью программы Robetta. Качество полученных моделей оценивали с помощью программы Qmean. К границам EMD4 были добавлены расположенные в прилежащих к EMD4 трансмембранных доменах аминокислоты PRO 233 и ALA 363, которые были фиксированы для имитации связи EMD4 с соседними трансмембранными регионами. Симуляцию молекулярной динамики проводили, используя силовые поля CHARMM36 в программе NAMD_CHARMMRUN. в явном растворителе, с размером водной коробки составлял 80*80*80 Å, использовали силовые поля CHARMM36 в программе NAMD_CHARMMRUN. Для стабилизации каждой системы проводили предварительную молекулярную динамику длиной 130 нс. Общая длина продуктивной траектории равновесной молекулярной динамики составила 300 наносекунд для каждой системы.

Сравнительный анализ траекторий различных систем показал, что вторичная структура EMD4 различается в зависимости от наличия дисульфидных связей C303-C350 и C322-C328. Изученные системы отличаются также по площади поверхности доступной для растворителя (SASA) как для эпитопа, так и для EMD4. Анализ главных компонент показал разницу в подвижности EMD4 без модификации и в системах с дисульфидными связями. Таким образом, конформационный анализ трехмерных структур EMD4 транспортера NaPi2b показывает, что наличие дисульфидных связей влияет на вторичную структуру и подвижность EMD4 в целом и в районе эпитопа, что предположительно может влиять на распознавание транспортера антителами, в том числе терапевтическими.

Источники и литература

- 1) Gryshkova V. [и др.]. The study of phosphate transporter NAPI2B expression in different histological types of epithelial ovarian cancer // Experimental Oncology. 2009. № 1 (31). С. 37–42

- 2) Kiyamova R.G. [и др.]. Identification of phosphate transporter NaPi2b as MX35 cancer antigen by modified SEREX approach // *Biopolymers and Cell*. 2008. № 3 (24). С. 218–224
- 3) Yin B.W.T. [и др.]. Monoclonal antibody MX35 detects the membrane transporter NaPi2b (SLC34A2) in human carcinomas // *Cancer Immunity*. 2008. (8)