**Исследование пространственных структур фибриллообразующих пептидных фрагментов белка семеногелин1 методами спектроскопии ядерного магнитного резонанса и молекулярно-динамического моделирования**

***Осетрина Д.А., Юльметов А.Р, Бикмуллин А.Г., Клочков В.В., Блохин Д.С.***

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

*Email: d.sanchugova@yandex.ru*

При исследовании факторов, влияющих на скорость передачи вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) через гетеросексуальный половой контакт, было обнаружено, что амилоидные фибриллы, образующиеся в семенной жидкости, увеличивают скорость проникновения вирионов-ВИЧ [1].

Белок семеногелин1 секретируется в семенных пузырьках и после эякуляции расщепляется внутренними протеазами на пептидные фрагменты, четыре из которых (SEM1(45-107), SEM1(49-107), SEM1(68-107) и SEM1(86-107)) образуют амилоидные фибриллы [3]. Они выступают в качестве катионного мостика, который уменьшает электростатическое отталкивание между отрицательно заряженными поверхностями вириона-ВИЧ и клетки-мишени. Для понимания процесса образования амилоидных фибрилл необходимо изучить нативные структуры этих пептидов, а также структурные изменения, приводящие к агрегации.

В этом исследовании впервые были найдены пространственные структуры четырех пептидных фрагментов белка семеногелин1 в мономерной форме (SEM1(45-107), SEM1(49-107), SEM1(68-107) и SEM1(86-107)), а также структуры N-доменов трёх изученных пептидов (SEM1(45-67) пептида SEM1(45-107), SEM1(49-67) пептида SEM1(49-107) и SEM1(68-85) пептида SEM1(68-107)). Структурные исследования проводились с использованием методов спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР) высокого разрешения, а также молекулярно-динамического (МД) моделирования.

Для исследуемых пептидов были зарегистрированы различные двумерные и трехмерные спектры ЯМР, с помощью которых была получена информация для расчета пространственной структуры каждого из пептидов. Все исследуемые пептиды обладают неупорядоченной вторичной структурой, но некоторые из них (SEM1(45-67), SEM1(45-107), SEM1(68-107)) содержат небольшие спиральные участки (α,310-спирали). Мы предполагаем, что эти спиральные участки могут участвовать в формировании фибрилл, а отсутствие жесткой структуры пептидов способствует их адаптации к различным условиям формирования фибрилл [2, 4, 5].

Для изучения процесса олигомеризации и образования амилоидных фибрилл для пептида SEM1(68-107) было проведено моделирование димера методом МД моделирования в пакете GROMACS и метадинамики с использованием библиотеки PLUMED для GROMACS. На протяжении всего времени моделирования структура димера оставалась стабильной, но наблюдались конформационные изменения в структурах каждого из пептидов: оба пептида имеют стабильные спиральные области (72Asp-77Asp и 90Leu-93Thr), которые расположены параллельно друг другу. Также оба пептида образуют 𝛽-петлю на участке 81K-85Y, которая изменяю направление основной цепи на 180°. Описанные конформационные изменения в структуре пептидов SEM1(68-107) в димере характерны для формирования зародышевого ядра в период лаг-фазы олигомеризации амилоидных пептидов. Также полученные результаты в данной работе показывают, что мы наблюдаем промежуточное состояние перед образованием 𝛽-листа, так как формирование амилоидогенной сборки, содержащей спиральные фрагменты, является ключевым этапом фибриллообразования.

Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (Д.С. Блохин, проект № 20-73-10034).

**Литература:**

1. Munch, J. Semen-derived amyloid fibrils drastically enhance HIV infection. / J. Munch, E. Rucker, L. Standker [et al.] // Cell – 2007. – Vol. 131, № 6. – P. 1059-1071.
2. Osetrina, D. Extent of N-terminus folding of Semenogelin 1 cleavage product determines tendency to amyloid formation / D.A. Osetrina, A.M. Kusova, A.G. Bikmullin, E.A. Klochkova, A.R. Yulmetov, E.A. Semenova, T.A. Mukhametzyanov, K.S. Usachev, V.V. Klochkov, D.S. Blokhi// Int. J. Mol. Sci. – 2023. – V. 24. – P. 8949
3. Roan, N. R. Peptides released by physiological cleavage of semen coagulum proteins form amyloids that enhance HIV infection. / N. R. Roan, J. A. Muller, H. Liu, et al. // Cell Host Microbe. – 2011. – V. 10. – P. 541-550
4. Sanchugova, D. Conformational ensemble of amyloid-forming semenogelin 1 peptide SEM1(68–107) by NMR spectroscopy and MD simulations / Sanchugova D., Kusova A., Bikmullin A., Yulmetov A., Mukhametzyanov T., Klochkov V., Blokhin D.// J. Struct. Biol. – 2022 – V.214 – <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2022.107900>
5. Sanchugova, D. The Structure of Fibril-Forming SEM1(86-107) Peptide Increasing the HIV Infectivity. / D. Sanchugova, A. Kusova, A. Bikmullin, V. Klochkov, D. Blokhin. // Bionaniscience. – 2021. – V. 11. – P. 182-188.