

Исследование пространственной структуры онкогенной формы трансмембранного домена рецептора эпидермального фактора роста человека ErbB2 методом ЯМР-спектроскопии.

А.А. Незвинский¹, К.Д. Надеждин^{1,2}, О.В. Бочарова², Э.В. Бочаров², А.С. Арсеньев^{1,2}.

¹Московский физико-технический институт (государственный университет)

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук

Тирозин-киназные рецепторы – класс мембранных белковых комплексов, широко распространенных в клетках млекопитающих [1]. Основной функцией этих рецепторов является передача внеклеточного сигнала внутрь клетки с участием многостадийных сигнальных каскадов. Одним из ярких представителей класса тирозин-киназных рецепторов является белок ErbB2, относящийся к семейству рецепторов эпидермального фактора роста человека. В организме человека данные белки отвечают за рост, развитие, дифференциацию клеток [2]. Внеклеточные домены рецепторов этого класса способны связывать лиганды, что вызывает конформационные перестройки всего рецептора, приводя к его димеризации и активации внутриклеточных киназных доменов. Последние данные указывают на значительную роль взаимодействий трансмембранных спиральных участков в образовании активного состояния рецептора. Мутации в трансмембранном домене рецепторов ErbB рецепторов приводят к онкологическим патологиям [3].

В данной работе с помощью метода спектроскопии ЯМР мы исследовали трансмембранный домен ErbB2, содержащий онкогенную аминокислотную замену Val659Gln. Пептид, содержащий 42 аминокислотных остатка, был получен в бактериальной системе экспрессии с применением ¹³C- и ¹⁵N-меченных питательных сред. В качестве среды, моделирующей мембрану клетки, использовались бицеллы, состоящие из липидов DMPC и DHPC в соотношении 1:3. На основе анализа спектров ЯМР была получена пространственная структура пептида в форме мономера (рис. 1). Часть трансмембранного домена, непосредственно встроенная в бислой (остатки 650-678), представляет собой α -спираль длиной около 40 Å. При этом N- и C-концевые участки находятся в водном окружении и не формируют упорядоченную структуру. Оценка времени корреляции вращательной диффузии основной цепи пептида указывает на высокую стабильность α -спирального участка. Несмотря на наличие полярной аминокислоты внутри гидрофобного липидного бислоя, полученная структура подобна аналогичной структуре нативного трансмембранного домена [4].

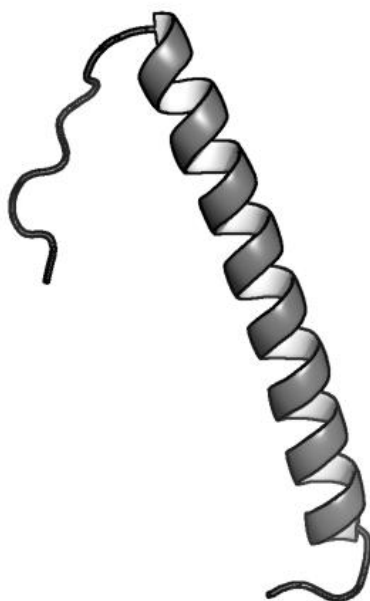


Рис.1 Структура трансмембранного домена ErbB2, содержащего онкогенную мутацию, в бицеллах DMPC/DHPC. Модель построена на основании данных, полученных методом ЯМР спектроскопии.

Получение димерной формы мутантного трансмембранного домена ErbB2 позволит на молекулярном уровне ответить на вопрос о влиянии онкогенных мутаций на способность к димеризации и передачи сигналов рецептором. Информация о структуре и механизмах взаимодействия белковых рецепторов может быть использована для более эффективной разработки фармакологических методов регулирования их активности.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 15-04-07893-а) и программы Российской академии наук «Молекулярная и клеточная биология».

Литература

1. *Lemmon MA, Schlessinger J.* Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell* 2010;141:1117–34.
2. *Roskoski R.* The ErbB/HER family of protein-tyrosine kinases and cancer. *Pharmacological Research* 2014;79:34–74.

3. *Yamamoto H, Higasa K, Sakaguchi M, Shien K et al.* Novel Germline Mutation in the Transmembrane Domain of HER2 in Familial Lung Adenocarcinomas. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106(1):1-4.
4. *Bocharov EV, Mineev KS, Volynsky PE, et al.* Spatial structure of the dimeric transmembrane domain of the growth factor receptor ErbB2 presumably corresponding to the receptor active state. *J Biol Chem.* 2008;283(11):6950–6.