

О ВЛИЯНИИ АМИНОКИСЛОТНОЙ ЗАМЕНЫ Y20W НА ВТОРИЧНУЮ СТРУКТУРУ ПЕПТИДА, СООТВЕТСТВУЮЩЕГО ФРАГМЕНТУ РЕЦЕПТОР-СВЯЗЫВАЮЩЕГО ДОМЕНА ПАРВОВИРУСА B19

Хрусталёв В.В.¹, Хрусталёва Т.А.^{1,2}, Шалыго Н.В.¹, Стожаров А.Н.¹, Сапон Е.Г.³,
Побойнев В.В.¹, Акуневич А.А.¹

¹Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

²Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

³Белорусский государственный технологический университет, Минск, Беларусь

Рецептор-связывающий домен парвовируса B19 находится на N-конце капсидного белка VP1. Его границы были установлены методом направленного мутагенеза [1]. Замена тирозина на триптофан в положении 20 (Y20W) практически полностью лишает вирус возможности проникнуть в цитоплазму [1]. Целью исследования явилось определение вторичной структуры синтетических пептидов (DT19Y – нативный, DT19W – мутантный), соответствующих предсказанной ранее [1] первой α -спирали (аминокислотные остатки 13–31 белка VP1) из рецептор-связывающего домена, при физиологическом значении pH методом инфракрасной спектроскопии горизонтального нарушенного полного внутреннего отражения (ИК ГНПВО).

Анализ спектров, зарегистрированных с помощью Thermo Nexus 670 FT-IR ESP Nicolet (Thermo Scientific), показал, что в 0,01 М фосфатном буфере при pH = 7,4 пептид DT19Y образует как β -структуру, так и α -спираль, так как на спектре имеются два пика в районе полосы амид I: 1625 см⁻¹ и 1657 см⁻¹ [2]. Фильтрация насыщенного раствора пептида DT19Y через центрифужный фильтр с нитроцеллюлозной мембраной с порогом отсеивания 10 кДа (Merk) привела к выделению фракции раствора, в котором полоса амид I представлена одним пиком, соответствующим α -спиральной конформации (1657 см⁻¹). Фильтрация того же раствора через мембрану с таким же порогом отсеивания, материалом которой является полиэфирсульфон (Sartorius), привела к выделению фильтрата, в котором полоса амид I представлена двумя пиками: α -спиральным (1658 см⁻¹) и β -структурным (1624 см⁻¹). Полученные данные могут свидетельствовать об избирательной адсорбции на поверхности нитроцеллюлозы β -структурной формы пептида DT19Y.

Пептид DT19W в 0,01 М фосфатном буфере при pH = 7,4 существует преимущественно в α -спиральной форме: на спектре ИК ГНПВО присутствует только один пик в пределах полосы амид I (при 1658 см⁻¹). Фильтрация насыщенного раствора DT19W через нитроцеллюлозную мембрану не завершилась выделением достаточно концентрированной фракции для оценки особенностей вторичной структуры пептида методом ИК ГНПВО. Адсорбция того же пептида на полиэфирсульфоновой мембране не достигла таких высоких значений (интенсивность сигнала флуоресценции при длине волны 360 нм в фильтрате составила 21% от исходной), что позволило проанализировать вторичную структуру пептида из фильтрата: один α -спиральный пик при 1658 см⁻¹. Полученные данные свидетельствуют о том, что изученный фрагмент рецептор-связывающего домена парвовируса B19 может образовывать как α -спираль, так и β -структуру при pH = 7,4. Замена Y20W сдвигает равновесие между α -спиральной и β -структурной формами в сторону α -спиральной. Можно предположить, что в составе полноразмерного белка данный фрагмент также может переходить в β -структурное состояние, в котором он и связывается с рецептором, чему препятствует замена Y20W.

Библиографические ссылки

1. Leisi R., Di Tommaso C., Kempf C. et al. The receptor-binding domain in the VP1u region of Parvovirus B19 // *Viruses*. 2016. Vol. 8. N. 61. P. 1–16.
2. Sadat A., Joye I.J. Peak fitting applied to Fourier transform infrared and Raman spectroscopic analysis of proteins // *Appl. Sci*. 2020. Vol. 10. N. 5918. P. 1–16.