

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ РИБОСОМ-ИНАКТИВИРУЮЩЕГО БЕЛКА ТРИХОБАКИНА С С-КОНЦЕВЫМ ФРАГМЕНТОМ P2 БЕЛКА 80S РИБОСОМЫ ПО ДАННЫМ КОРРЕЛЯЦИОННОЙ ГЕТЕРОЯДЕРНОЙ ЯМР СПЕКТРОСКОПИИ

В. В. Бритиков¹, Е. В. Бритикова¹, Э. В. Бочаров², С. А. Усанов¹

¹*Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

²*ФГУБ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Российская Федерация*

Корреляционная гетероядерная ЯМР спектроскопия является мощным методом, позволяющим детально изучить на атомарном уровне взаимодействия между молекулами белков и их лигандами различной природы. Анализ картины пертурбации химических сдвигов в ^1H - ^{15}N HSQC спектрах при титровании ^{15}N меченного белка молекулами лигандов является основой эксперимента, направленного на определение кинетики и термодинамики процесса взаимодействия между исследуемыми молекулами [1].

В данной работе мы использовали ЯМР спектроскопию для исследования взаимодействия рекомбинантного рибосом-инактивирующего белка трихобакина (ТВК) с С-концевым фрагментом P2 белка стеблевого комплекса 80S рибосомы человека. ТВК является перспективным белком для создания на его основе таргетных противоопухолевых препаратов, так как обладает исключительной ингибирующей активностью синтеза белка на рибосомах млекопитающих ($\text{IC}_{50} - 3.5 \text{ пМ}$) [2]. ТВК относится к РИБ 1-го типа, поэтому не обладает токсическими свойствами, избирательно ингибирует рост раковых клеточных линий [3]. Для рационального улучшения таргетных свойств ТВК необходимо располагать детальной информацией о механизме взаимодействия с белками партнерами, в том числе и с ключевыми белками стадии элонгации трансляции, к которым относится P2 белок, для того чтобы снизить вероятность нарушения соответствующего взаимодействия при изменении структуры методами белковой инженерии.

В результате работы был картирован сайт взаимодействия и определена константа K_D и K_{off} для комплекса между ТВК и фрагментами P2 белка разной длины (от 11, 18 и 24 а.о. с С-конца) с применением 2D анализа формы линии кросс-пиков в спектрах ^1H - ^{15}N HSQC [4]. Установлено, что механизм взаимодействия может быть описан одностадийной бимолекулярной реакцией с одним сайтом взаимодействия в области спиралей $\alpha 6$, $\alpha 7$ и С-концевой β -шпильки. Сродство между ТВК и P2 увеличивается при переходе от 11 ($K_D - 960 \pm 80 \text{ мкМ}$) к 18 остаткам ($K_D - 264.9 \pm 1.7 \text{ мкМ}$) и не изменяется при дальнейшем удлинении цепи P2. Полученная информация позволит избежать нежелательного воздействия на результирующую ингибирующую активность при рациональном дизайне противоопухолевого препарата на основе ТВК методами белковой инженерии.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ (грант № X23РНФ-091) и РФФИ (грант № 23-44-10021).

Библиографические ссылки

1. *Williamson M. P.* Using chemical shift perturbation to characterise ligand binding // *Progress in nuclear magnetic resonance spectroscopy*. 2013. Vol. 73. P. 1–16.
2. Backbone and side-chain chemical shift assignments for the ribosome-inactivating protein trichobakin (TBK) / V. V. Britikov [et al.] // *Biomolecular NMR Assignments*. 2020. Vol. 14. P. 55–61.
3. *In vitro* and *in vivo* anti-tumor effect of Trichobakin fused with urokinase-type plasminogen activator ATF-TBK / D. D. Pham [et al.] // *Molecular Biology Reports*. 2024. Vol. 51, iss. 1. P. 130.
4. Two-dimensional NMR lineshape analysis / C. A. Waudby [et al.] // *Scientific reports*. 2016. Vol. 6, iss. 1. P. 24826.