

Получение и очистка трансмембранного домена белка b₅ из P450-цитохром зависимой системы человека для структурных ЯМР-исследований

Научный руководитель – Бочаров Эдуард Валерьевич

Плащинская Д.Д.¹, Бершацкий Я.В.²

1 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail:* *plashchinskaia.dd@phystech.edu*; 2 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail:* *yaroslav.bershatskiy@phystech.edu*

Цитохромы P450 представляют собой суперсемейство оксигеназ со смешанными функциями, которые встречаются во всех организмах, но особенно многочисленны у эукариот. В отличие от прокариотических P450, эукариотические P450 (P450-эук) главным образом являются мембран-связанными белками, встроенными в эндоплазматический ретикулум или внутреннюю мембрану митохондрий. Гидрофобный N-концевой полипептидный фрагмент примерно из 30-50 аминокислотных остатков предшествует каталитическому (гем-содержащему) домену в P450-эук и обеспечивает встраивание белка в эндоплазматический ретикулум в процессе его синтеза на рибосомах.

У человека имеется 57 различных мембраносвязанных цитохромов P450 [1]. Они обнаружены во всех тканях организма и влияют на множество биохимических и физиологических процессов, включая эмбриональное развитие, свертывание крови и метаболизм канцерогенов, лекарственных препаратов, гормонов и витаминов группы D.

Изучение P450 b₅ представляет значительный практический интерес. Он используется в качестве модельной системы для тестирования метаболизма разработанных низкомолекулярных лекарственных препаратов *in vitro* [2].

Для структурно-динамических исследований методами ЯМР-спектроскопии высокого разрешения мы разработали и оптимизировали протокол получения и очистки трансмембранного (ТМ) фрагмента P450 b₅ в бесклеточной системе экспрессии. Нами были получены ¹⁵N- и ¹⁵N, ¹³C-изотопно-меченые образцы целевых белков в миллиграммовых количествах, необходимых для характеристики пространственной структуры и динамики ТМ доменов. В качестве предварительного результата мы получили гетероядерные спектры ЯМР в мембраноподобной среде, мицеллах додецилфосфохолина.

ЯМР-исследования и биотехнологические работы были поддержаны Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 20-54-00041, руководитель - к.х.н. Бочаров Э.В.) и Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (проект № X20P-159, руководитель - чл.-корр. НАН Беларуси д.х.н. Усанов С.А.).

Источники и литература

- 1) Guengerich, F.P., Wu Z.L., Bartleson C.J. (2005) Function of human cytochrome P450s: characterization of the orphans. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 338, 465–469.
- 2) Usanov S. A., Kliuchenovich A. V., Strushkevich N. V. (2019) Drug design strategies for Cushing's syndrome. *Expert opinion on drug discovery*, 14(2), 143-151.