

## Неструктурированные белки: биофизическая характеристика и биологическая роль

(Конференция по неструктурированным белкам – *Intrinsically Unfolded Proteins* (IUP) Будапешт, 20–24 мая 2007 г.)

До последнего времени парадигма о том, что белки могут выполнять свои функции, лишь приобретя стабильную третичную структуру, казалась незыблемой. На протяжении последнего десятилетия появилось большое количество данных, опровергающих традиционную точку зрения. Были открыты белки, которые не сворачиваются в стабильную третичную структуру и находятся в растворе в состоянии, традиционно считавшимся денатурированным. Первым взял на себя смелость объявить о возможности естественной неструктурированности белков Питер Райт (Peter Wright, Исследовательский институт Скриппс, Калифорния, США) в 1999 году. Неожиданностью оказалось и то, что порядка 70 % всех белков эукариотов имеют неструктурированные участки. В связи с такой широкой распространенностью полной или частичной неструктурированности проблема исследования названных белков, разработка методологии их анализа как *in vivo*, *in vitro*, так и *in silico*, вопросы номенклатуры и т. д. приобретают все большую актуальность.

IUP – первая международная конференция по неструктурированным белкам – организована лабораторией Петера Томпы (Peter Tompa) из Института энзимологии Венгерской Академии Наук и проходила в конференц-центре Центральноевропейского университета. Актуальность темы конференции

подтверждается количеством ее участников – 160 вместо 60, ожидавшихся организаторами.

Конференция открылась пленарной лекцией Кифа Данкера (Keith Dunker, Университет шт. Индиана, США). Начав с истории вопроса, он сообщил, что первые идеи и эксперименты, показывающие возможность выполнения белком своей функции, не принимая при этом определенной пространственной структуры, появились еще в 1935 году! Процент полностью или частично неструктурированных белков в эукариотных протеомах велик (40 и 70 % соответственно), в то время как прокариотные белки выявляют более «скромную» неструктурированность. Основные вопросы доклада касались связи неструктурированности и функции белков (неструктурированные белки часто взаимодействуют со многими партнерами, что важно, например, для передачи сигналов внутри клеток); речь также шла о том, что эти белки являются ключевыми центрами взаимодействия («хабами») в интерактомах; альтернативно сплайсированные белки часто неупорядоченны; для разработки лекарств указанные белки имеют огромное значение, но работа с ними связана с огромными трудностями, поскольку программы традиционного докинга и скрининга библиотек лигандов могут оказаться малоэффективными. Проф. Данкер коснулся и терминологии. Традиционный термин «индуцированное соответствие»

(«induced fit»), характеризующий механизм действия неструктурированных белков, он считает неприемлемым, предпочитая термин «спаренное связывание и сворачивание» («coupled binding and folding»).

Сессия биофизической характеристики неструктурированных белков началась пленарной лекцией Питера Райта, акцентировавшего внимание на важности ЯМР как основного биофизического метода исследования неструктурированных белков, представляющих собой некий структурный континуум.

Филипп Селенко (Philipp Selenko, Гарвардский университет, США) продемонстрировал возможности нового уникального метода *in vivo* ЯМР для анализа неструктурированности живой клетки. Ооциты шпорцевой лягушки инокулируют меченым белком, после чего снимают спектры. Метод подтверждает неструктурированность исследуемых белков *in vivo*.

Профессор Лоренс Баррон (Laurence Barron) рассказал о редко используемом методе релеевского рассеяния (ROI), который он применяет в своей лаборатории для анализа содержания вторичной структуры и определения степени неупорядоченности белка.

Джордж Роуз (George Rose, Университет Джонс Хопкинс, Мериленд, США) проанализировал переходы между неструктурированным и свернутым состоянием, энтропическую цену этого перехода и его временную шкалу.

Боян Загрович (Bojan Zagrovic, Институт физической химии, Цюрих, Швейцария) методом молекулярной динамики провел анализ ансамблей конформаций, принимаемых неструктурированными белками в растворе. При этом были использованы компьютерные возможности Грин-проекта «Folding at Home» и просчитаны тысячи траекторий.

На сессии, посвященной связи белковой неструктурированности с функцией белка и болезнями, Владимир Уверский (Vladimir Uversky, Университет шт. Индиана, США) говорил о важности постоянно неструктурированных белков для медицины. Многие белки, связанные с генетическими заболеваниями, частично или полностью неструктурированы. Примером, ставшим классическим,

является полностью неструктурированный белок альфа-синуклеин, ассоциированный с болезнью Паркинсона. Интересно, что характерным свойством многих неструктурированных белков является стабилизация вторичной структуры при повышении температуры или величины pH!

Екхарт Манделкоф (Eckhard Mandelkow, Институт Макса Планка, Германия) посвятил свой доклад неструктурированному белку tau, агрегация которого приводит к болезни Альцгеймера.

Гэри Додрил (Gary Daughdrill, Московский университет шт. Айдахо, США) рассказал об изучении ансамблей конформаций трансактивационного домена белка p53 методами ЯМР и моделирования молекулярной динамики. Из анализа карт контактов аминокислот он вычленил набор наиболее статистически вероятных ансамблей конформаций.

Пленарная лекция Эмили Диммер (Emily Dimmer, Кембриджский университет, Великобритания) отличалась от всех остальных своей направленностью. Представляя проект генной онтологии (Gene Ontology, GO), она говорила о важности участия в нем научного сообщества и необходимости стандартизации терминологии (существует более десятка разных названий самого явления неструктурированности).

Рональд Ветцель (Ronald Wetzel, Питтсбургский университет, Пенсильвания, США) представил результаты экспериментов по «прививке» (именно этот термин – «grafting» – он использовал) и взаимодействию неупорядоченных повторяющихся участков белка Huntington, вызывающего болезнь Хантингтона.

На сессии биоинформатического анализа неструктурированности итоги своего исследования продемонстрировали группы Иштвана Шимона (Istvan Simon, Институт энзимологии, Будапешт, Венгрия), Роберта Эснуфа (Robert Esnouf, Оксфордский университет, Великобритания), Оксаны Гальцицкой (Oxana Galtzitskaya, Институт белка, Пушкино, РФ), Сюзанны Достони (Szusanna Dosztanyi, Институт энзимологии, Будапешт, Венгрия), Израэля Сильмана (Israel Silman, Веицмановский институт, Иерусалим, Израиль), Моники Фуксрайтер (Monika Fuxreiter, Институт энзимологии, Будапешт, Венгрия).

Особенно стоит остановиться на работе Дэвида Джонса (David Jones, Лондонский университетский колледж, Лондон, Великобритания) – одного из основателей и активных участников эксперимента CASP (критический анализ методов предсказания третичной структуры белков; кстати, в CASP'е теперь появилась секция по предсказанию неструктурированности). Его метод основан на вапниковских Support Vector Machines (SVM) и, похоже, дает неплохие результаты.

На сессии «Неструктурированность в белково-белковом и белково-нуклеиновом взаимодействии» Ада Йонат (Ada Yonath, Вейцмановский институт, Иерусалим, Израиль) сделала блестящий доклад о гипотетически неструктурированных белках рибосомы. Аудиторию привел в полный восторг короткий мультфильм, снятый на основе экспериментальных данных и компьютерного моделирования, демонстрирующий работу нескольких рибосомных белков в контексте полной рибосомы.

Петер Томпа изложил свои результаты, свидетельствующие о том, что частично неструктурированные участки могут служить слабым сигналом для деградации белков.

Геннадий Верхивкер (Gennady Verkhivker, Университет штата Канзас, США и Калифорнийский университет в Сан-Диего, Калифорния, США) проанализировал возможности компьютерного докинга в создании медицинских препаратов, взаимодействующих с неструктурированными белками.

От Института молекулярной биологии и генетики НАН Украины (г. Киев) были представлены три сообщения: А. Новосильной с соавт. на тему «Важность неупорядоченности для нормальной и онкогенной изоформ eEF1A», А. Корнелюка и соавт. «Конформационная гибкость неструктурированного междоменного линкера тирозил-тРНК синтетазы млекопитающих, изученная методом моделирования МД» и Ф. Терещенко с соавт. «Динамика цитокин-подобного С-концевого домена тирозил-тРНК синтетазы млекопитающих при 315К: изменчивая неупорядоченность или расплавленная глобула?». Они вызвали заметный интерес у коллег – участников конференции.

Общение в кулуарах и стендовая сессия дали возможность познакомиться и наладить контакты со многими учеными, работающими в данной области.

Хотелось бы поблагодарить организатора конференции Петера Томпу и его группу – Денеша Ковача (Denes Kovacs) и Естер Хози (Ezster Hózy) за редкую в последние годы безупречную организацию конференции.

*Köszönöm szépen! – Большое спасибо!*

Ф. А. Терещенко,  
Институт молекулярной  
биологии и генетики  
НАН Украины