

Изучение структуры cNBD-домена человеческого канала Kv10.2

Научный руководитель – Соколова Ольга Сергеевна

Киприна Анастасия Алексеевна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоинженерии, Москва, Россия

E-mail: kiprinarulit@gmail.com

Домены, связывающие циклические нуклеотиды (CNBD) входят в состав селективных катионных каналов (например, CNG [1]) и ферментов, например, протеинкиназы А и протеинкиназы G. Этот домен располагается внутри клетки и связывает цАМФ и цГМФ. Связывание домена с лигандами влияет на работу и активность белков. Катионные каналы семейства CNG открываются в ответ на связывание CNBD с циклическими нуклеотидами. CNBD, таким образом, играет важную роль в сенсорном ответе, хемотаксисе и др.

У потенциал-зависимых калиевых каналов Kv10.2 домен CNBD присутствует на С-конце каждого мономера, но в аллостерической регуляции канала он не участвует, так как активность канала Kv10.2 не зависит от присутствия циклических нуклеотидов в клетке. Согласно литературным данным CNBD канала Kv10.2 участвует во взаимодействии с N-концевым доменом этого канала и другими цитоплазматическими белками [2].

Целью данной работы было изучение структуры CNBD человеческого канала Kv10.2. Для экспрессии белка была получена плаزمиды, кодирующая рекомбинантный белок, содержащий МВР, CNBD, сайт действия протеазы (НЗС), аффинный таг (His6) для очистки. Слитный белок экспрессировали в клетках *E.coli* XL10 Gold. Белок был очищен с помощью аффинной хроматографии, анионообменной хроматографии и гельфильтрации. По полученным нами данным, очищенный CNBD склонен образовывать димеры. Для того, чтобы обосновать за счет каких взаимодействий происходит димеризация CNBD, использовался метод моделирования по гомологии. Для моделирования структуры целевого белка по гомологии использовалась последовательность и рентгеноструктурная модель домена CNBD (cyclic nucleotide binding homology domain) канала mEAG [3]. Трехмерная структурная модель по гомологии была построена в программе Modeller. Полученная модель показывает наличие цистеинов на поверхности мономера CNBD, взаимодействия между которыми могут приводить к димеризации. В дальнейшем планируется заменить все цистеины на аланины.

Источники и литература

- 1) Kaupp UB1, Seifert R. Cyclic nucleotide-gated ion channels // *Physiol Rev.* 2002 Jul;82(3):769-824
- 2) Bracey K. et al. Tubulin as a binding partner of the heag2 voltage-gated potassium channel // *J. Membr. Biol.* 2008. Vol.222, №3. P. 115-125
- 3) Marques-Carvalho MJ1, Morais-Cabral JH. Crystallization and preliminary X-ray crystallographic characterization of a cyclic nucleotide-binding homology domain from the mouse EAG potassium channel. // *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun.* 2012 Mar 1;68(Pt 3):337-9.