

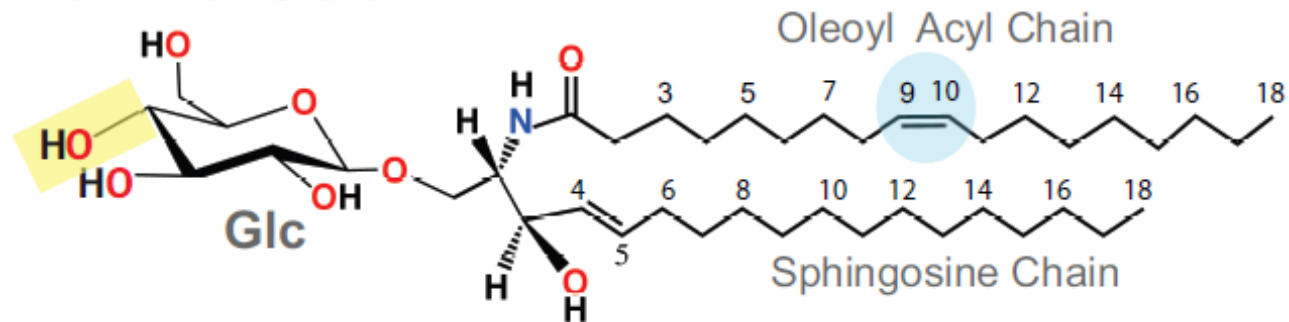
РЕНТГЕНОСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ КАК ОСНОВА РАЦИОНАЛЬНОГО ДИЗАЙНА БЕЛКА ГЛИКОЛИПИДНОГО ТРАНСПОРТА

Белок гликолипидного транспорта (GLTP)

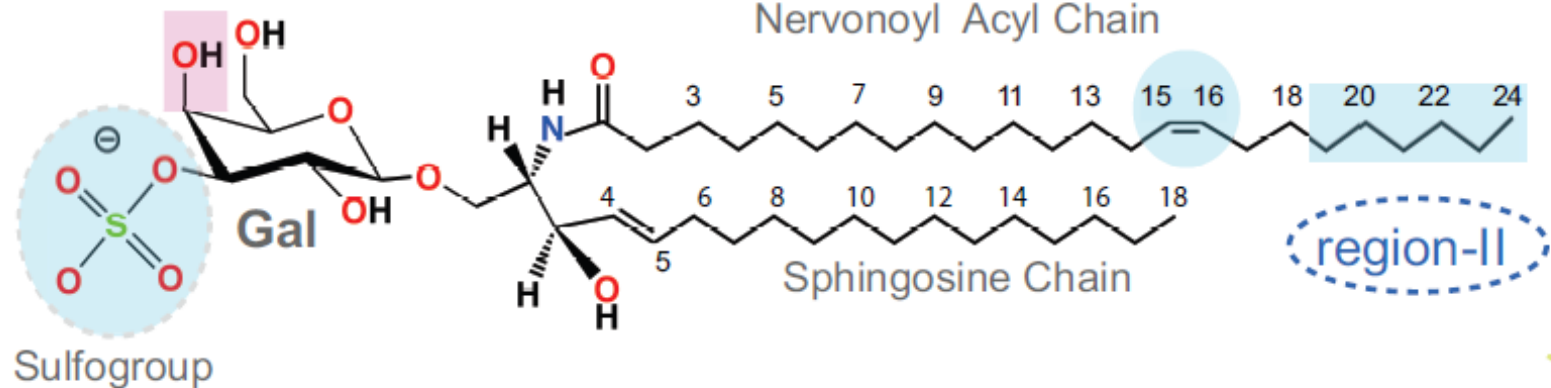
- осуществляет неселективный невискулярный транспорт гликосфинголипидов
- укладка полипептидной цепи получила название GLTP-fold

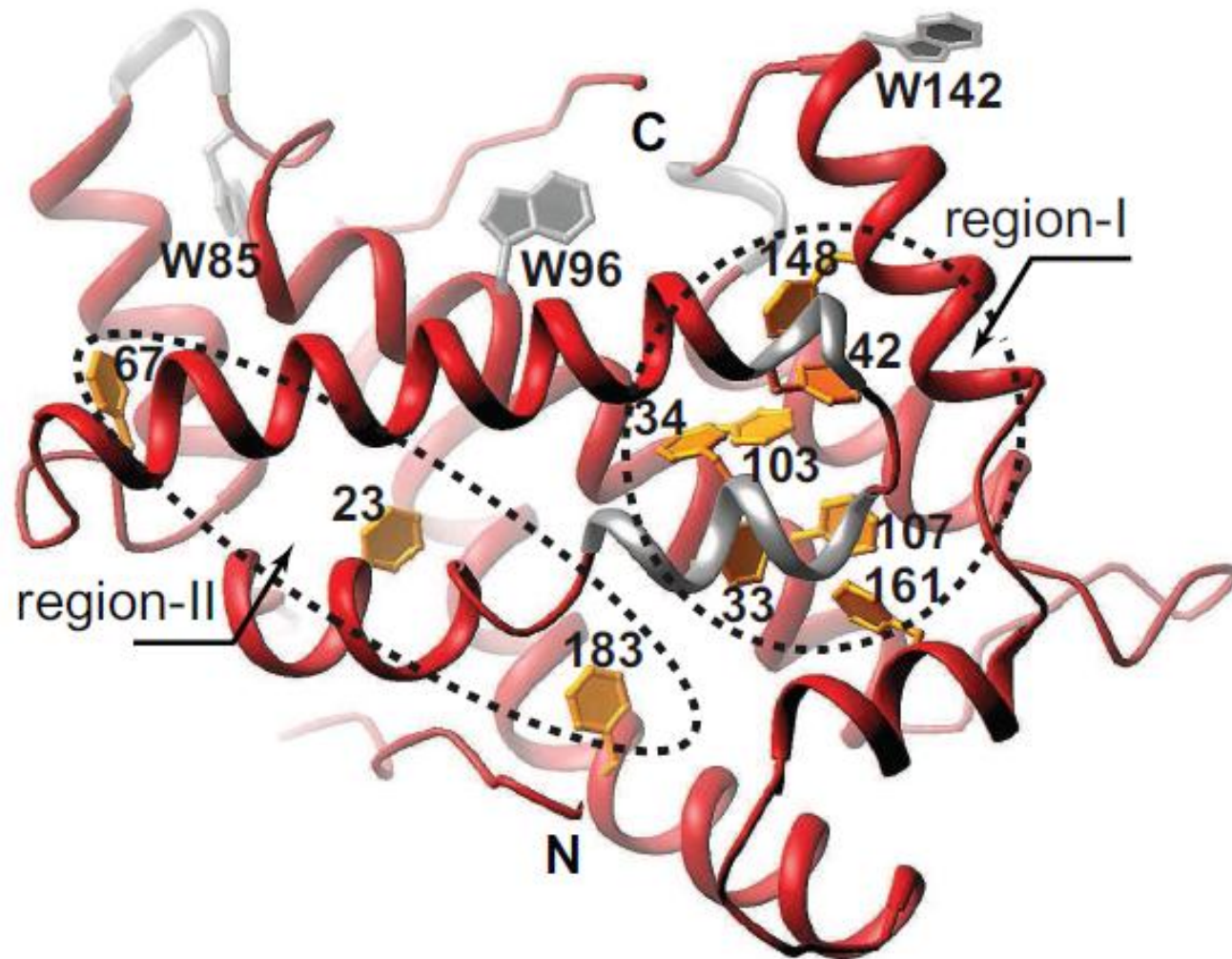
- Метаболизм липидов важен для развития организма
- Гликофинголипиды играют роль в регуляции роста клетки, старении
- Нарушение трафика гликофинголипидов приводит к различного рода заболеваниям

18:1-GlcCer



24:1-SF





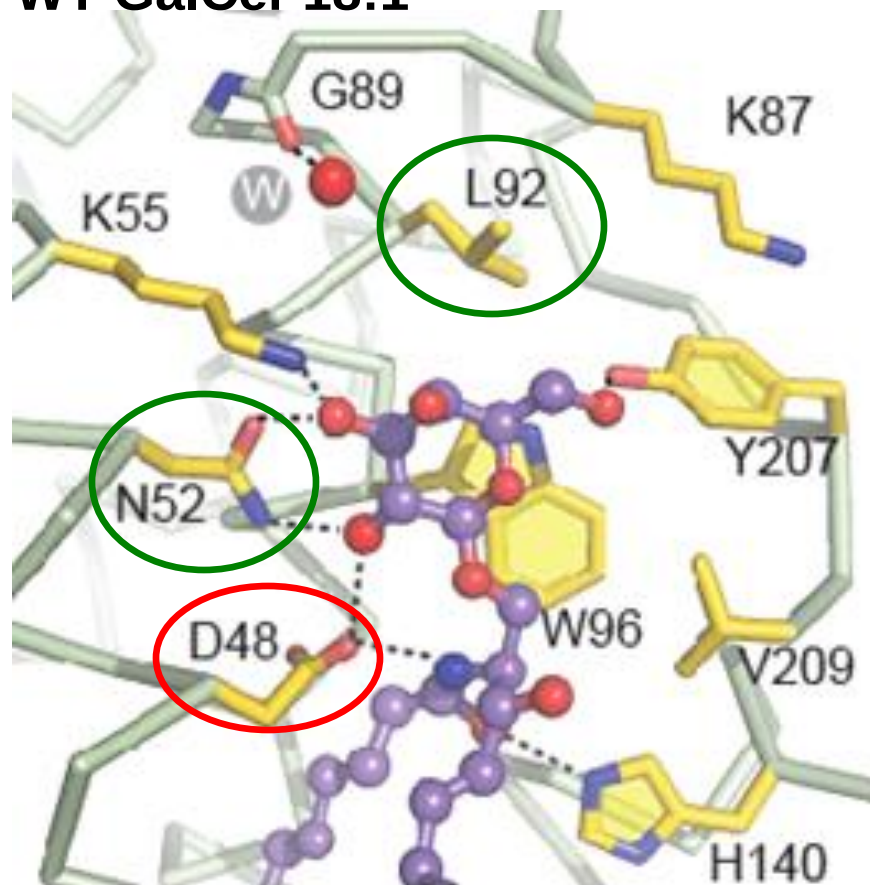
Malinina et al, *Nature* **430**, 1048-1053 (2004)

Задачи исследований в структурной биологии по мере развития метода

- исследование структуры**
- понимание функции**
- создание селективных белков с заданными свойствами, определение механизма селективности**

GLTP – объект для рационального дизайна

WT-GalCer 18:1



**Замена D48→V
приводит к
селективности
мутанта к
сульфатидам**

Сульфатиды и галактазилсерамид-
основные гликосфинголипиды клеток
мозга

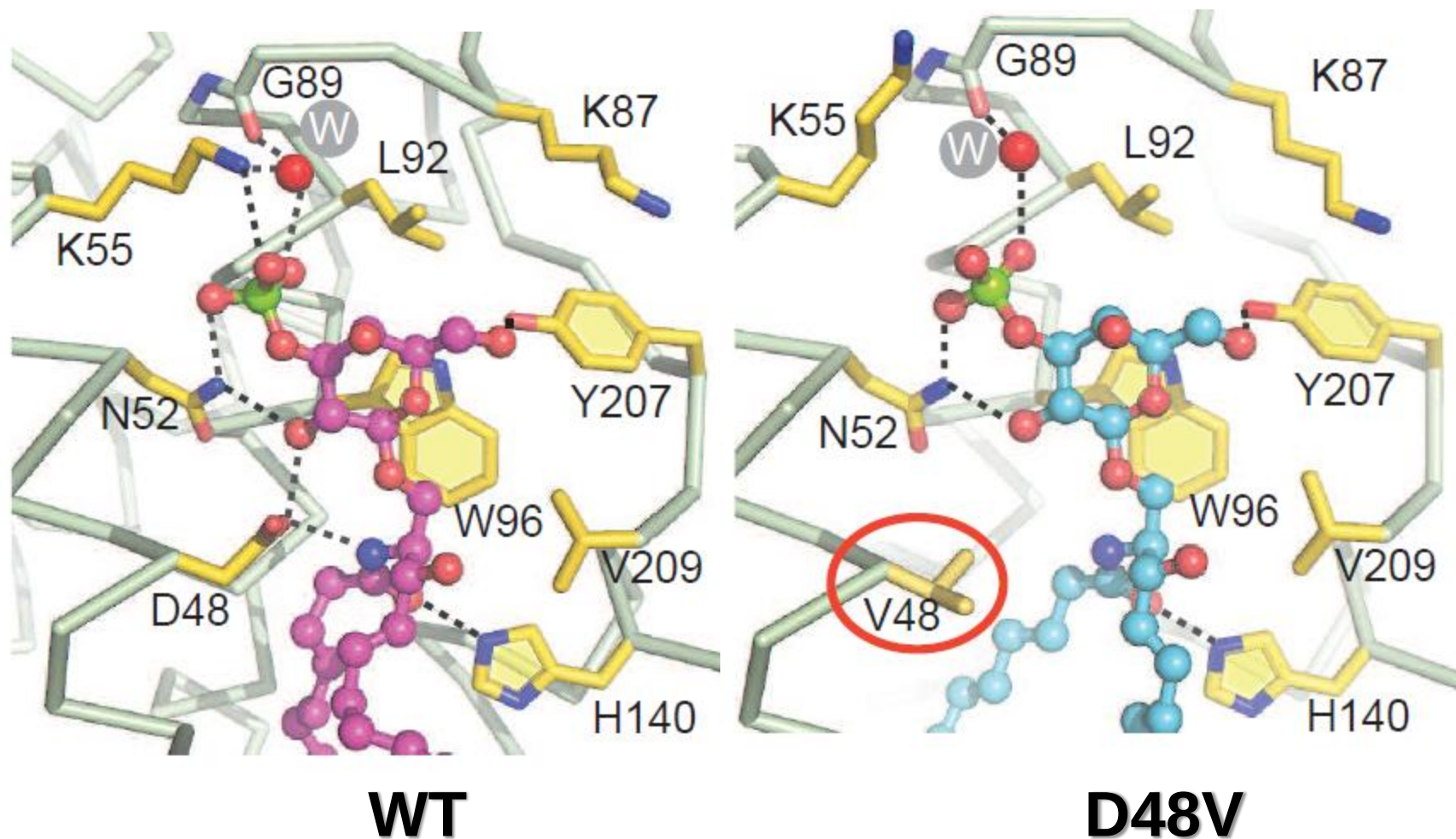
Нарушение транспорта сульфатидов
играет роль в болезни Паркинсона и
Альцгеймера, рассеянном склерозе,
эпилепсии и др. нейродегенеративных
заболеваниях

РЕНТГЕНОСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ GLTP (WT и D48V) С СУЛЬФАТИДАМИ

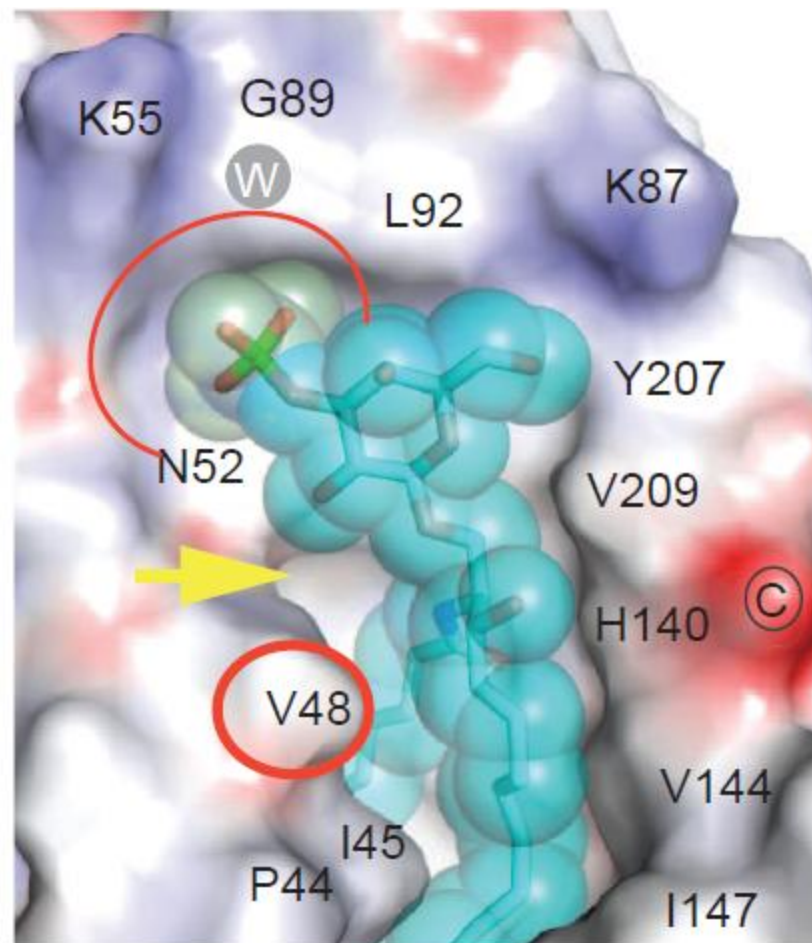
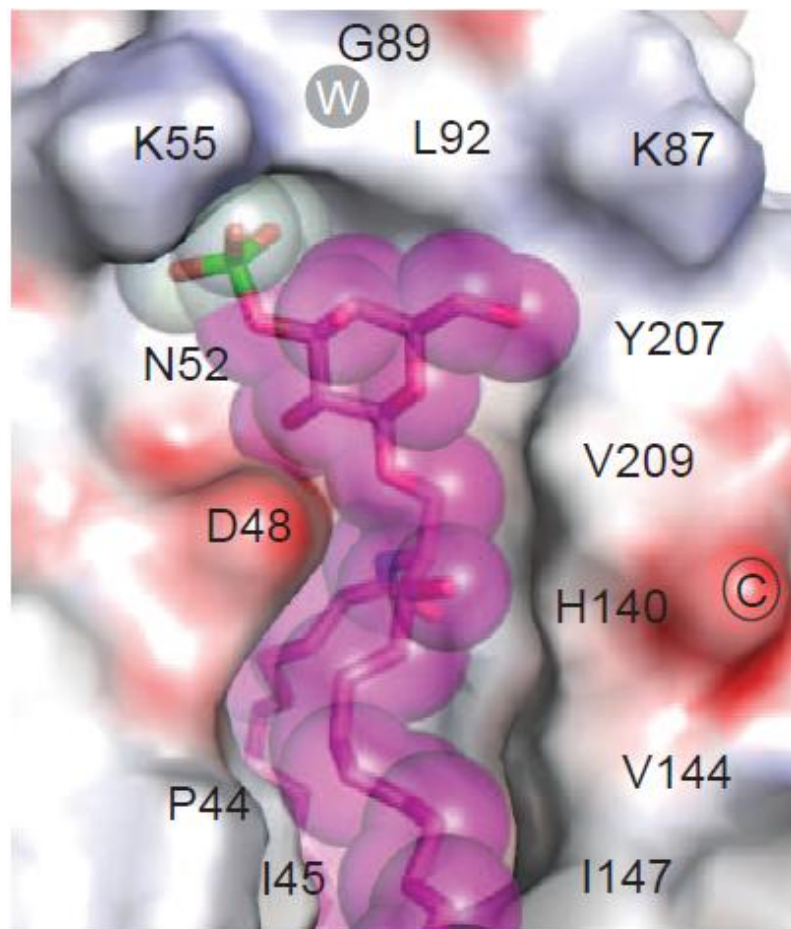
	WT-SF 12:0	WT-SF 24:1	D48V-SF 12:0	D48V-SF 24:1
Space group	C2	C2	C2	C2
a,b,c (Å) , $\beta(^{\circ})$	74.60,49.99, 65.46, 118.62	74.97, 50.6, 65.43, 118.5	77.99, 47.24, 62.25, 125.5	77.97, 49.04, 62.63, 125.0
Resolution (Å)	50-1.45(1.48- 1.45)	50-1.06(1.1- 1.06)	50-1.35(1.4- 1.35)	50-1.5(1.55- 1.50)
R _{sym} or R _{merge}	5.4 (44.9)	8.0(29.3)	7.9(46.7)	6.1(44.4)
I/ σ I	24.5(3.12)	19.0(3.67)	17.9(2.68)	8.8(2.0)
Completeness (%)	98.97(97.02)	99.8(99.5)	99.6 (99.8)	99.9(99.9)
R _{work} /R _{free}	16.2/19.92	13.84/16.40	15.0/18.0	17.9/21.0

Наборы данных собраны в ESRF

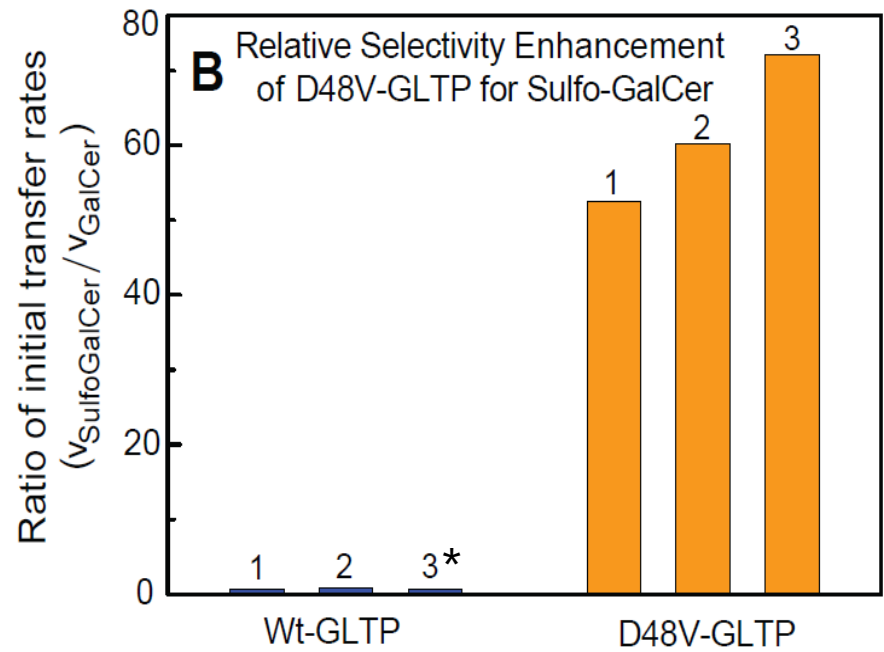
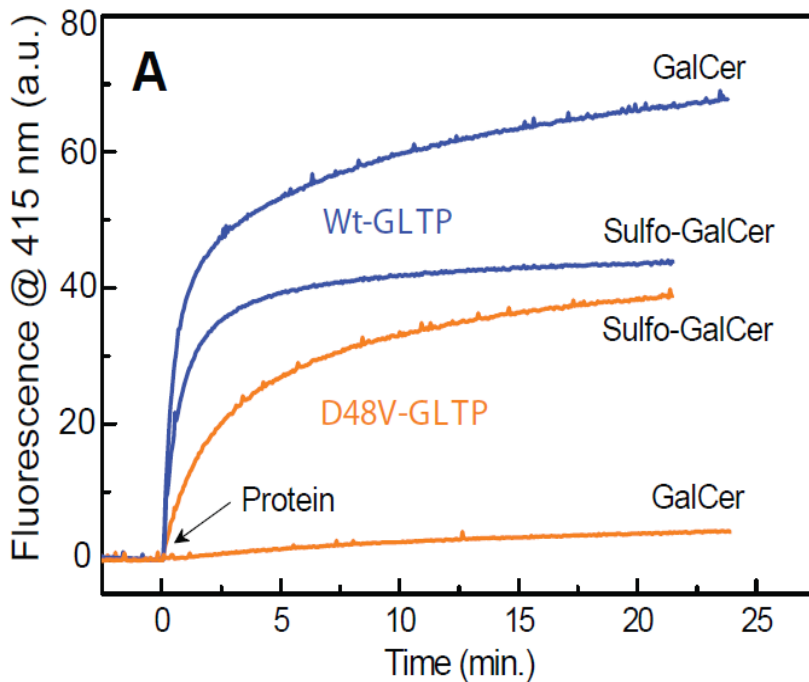
Центр распознавания сахарной части липидов



Комплементарная поверхность полости связывания сульфатида

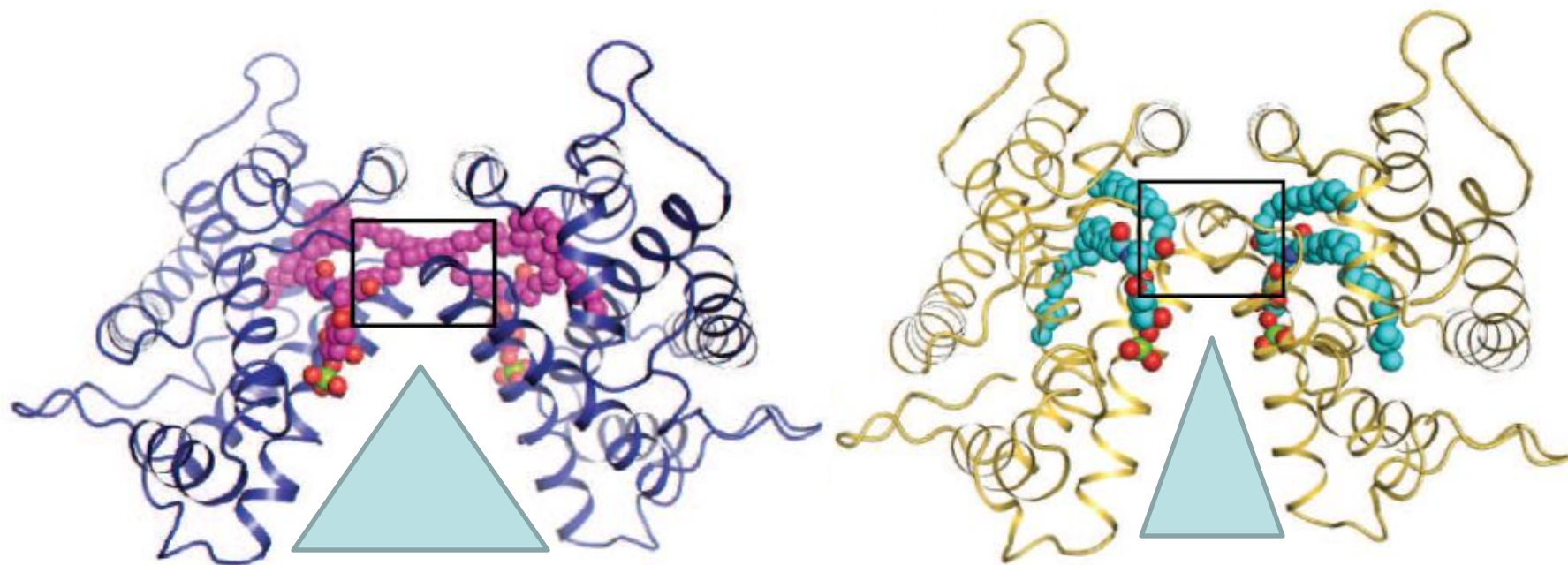


Транспортная активность D48V

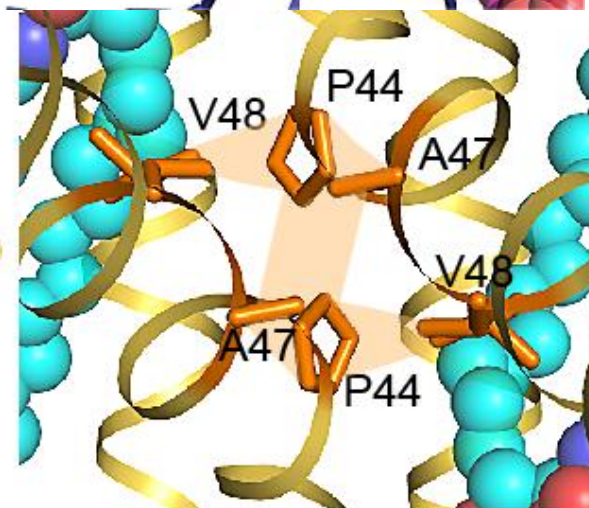
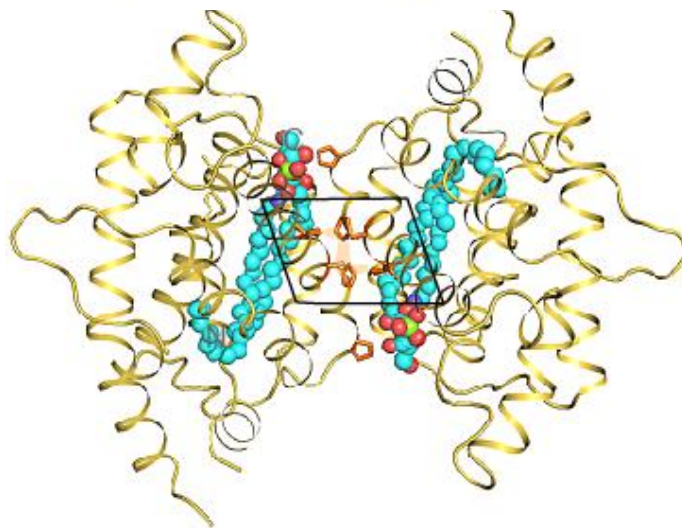
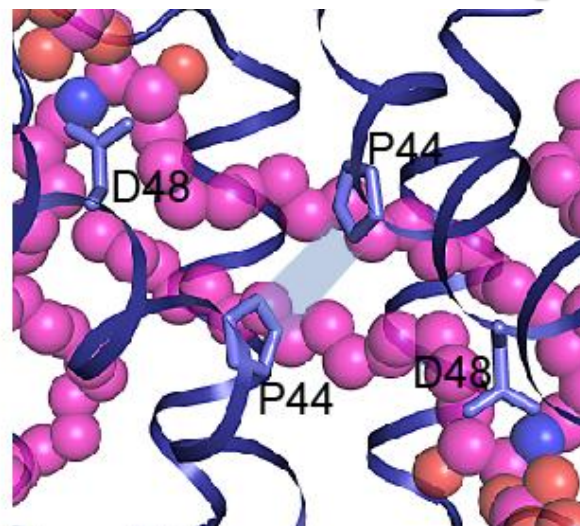
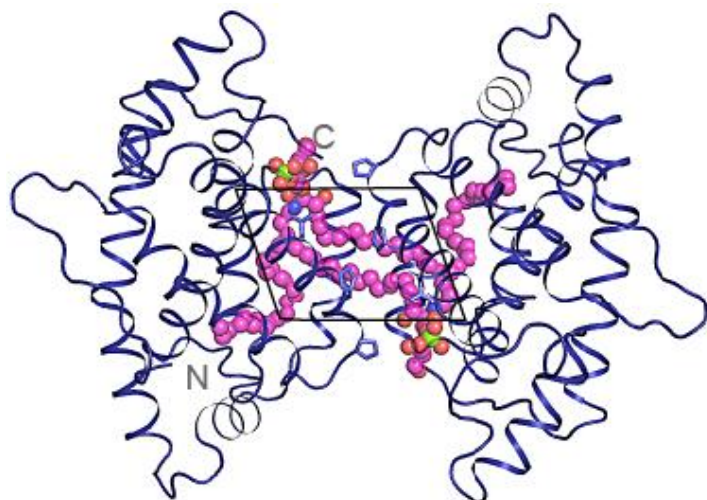


* concentration, μg

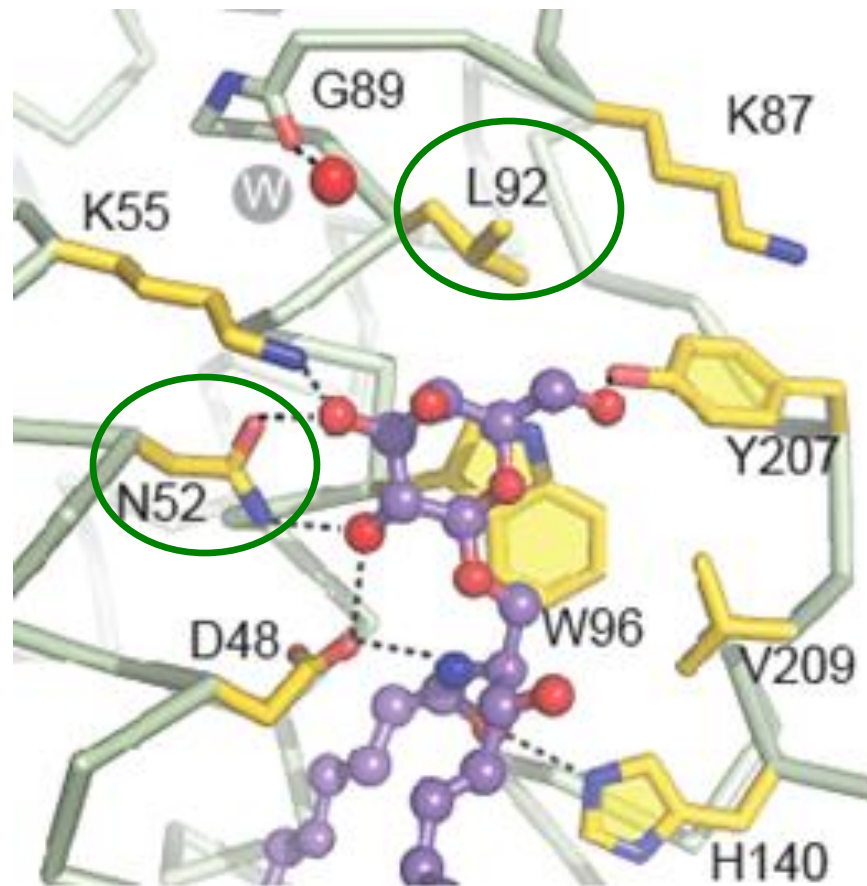
Смена моды связывания липида, изменение димера GLTP



Изменение взаимодействий в области контактов мономеров



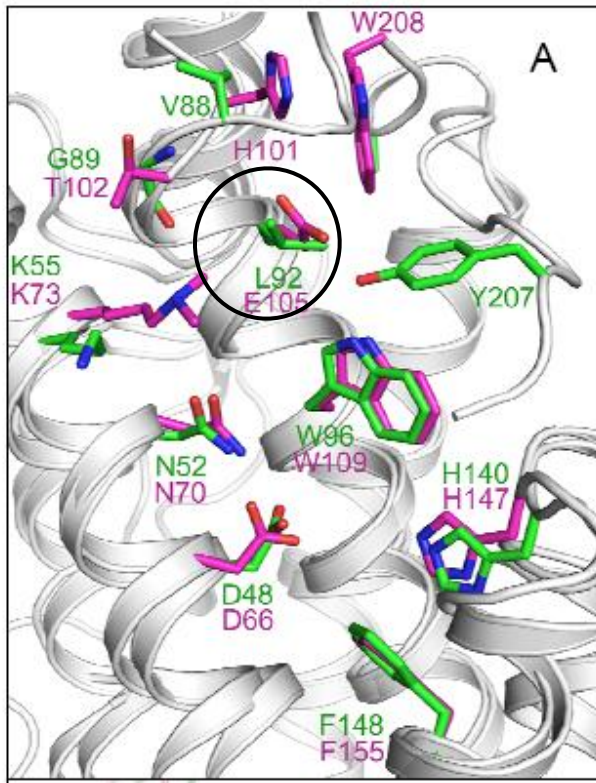
Возможный дизайн GLTP



WT-GalCer 18:1

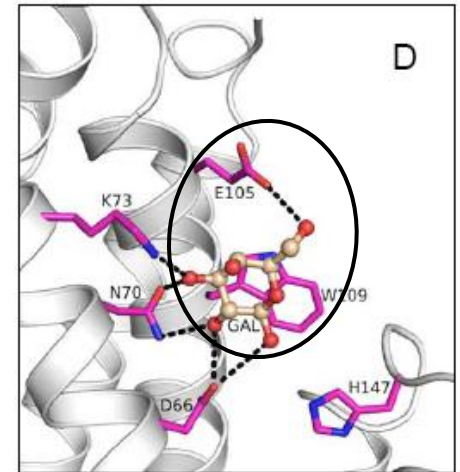
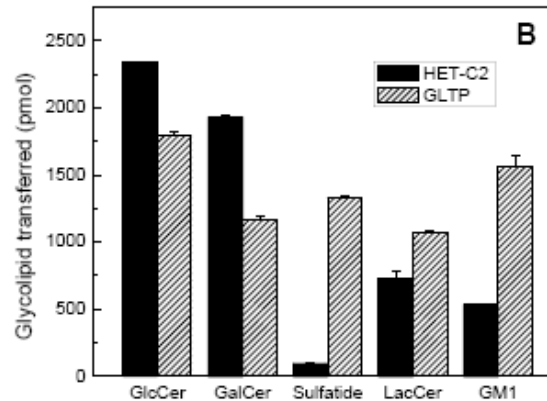
GLTP и другие GLTP-fold белки

HET-C2 (*Podospora anserina*)



■ GLTP
■ HET-C2

Kenoth et al. *J Biol Chem.* 285,
13066(2010).



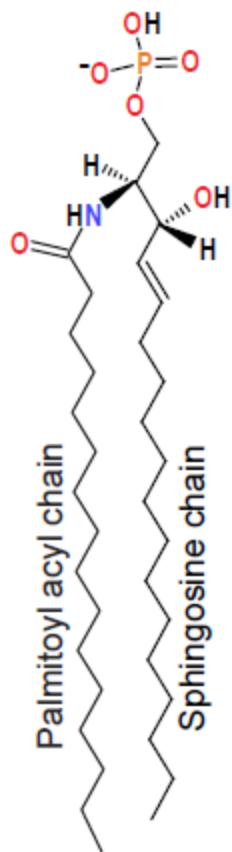
HET-C2 специфичен к GalCer и GlcCer

hCPTP специфичен к фосфолипидам

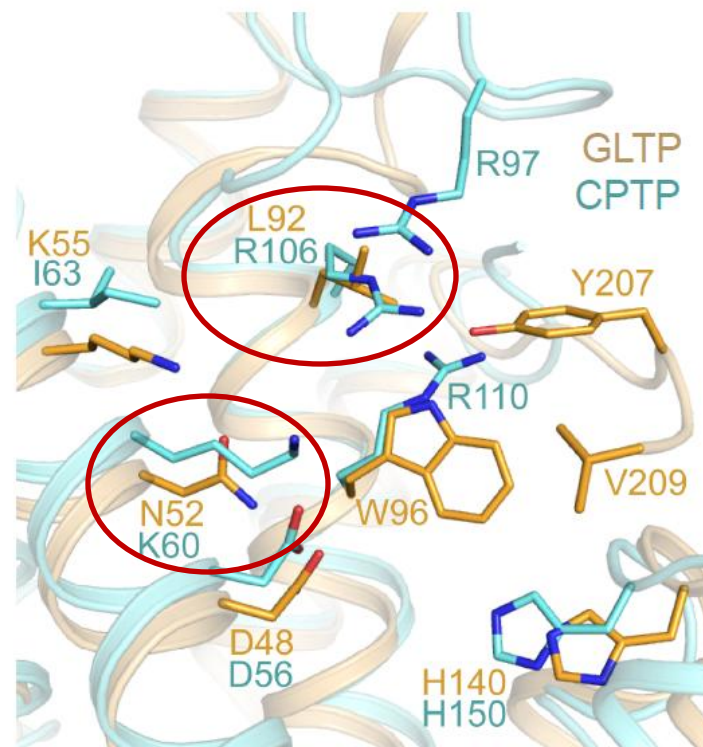
52
CPTP IFSFISKDVVSKLRI
GLTP VFTPIKADISGNITK

92
CPTP SGCRTVLRLHRAHWH
GLTP GATLALMWLKRGLRF

hCPTP специфичен к фосфолипдам



		60
CPTP	IFSFIISKDVVSKLRI	
GLTP	VFTPIKADISGNITK	52
		106
CPTP	SGCRTLRLRLHRAALHW	
GLTP	GATLALMWLKRGLRF	92



Simanshu et al, *Nature*, (2013)

Borja Ochoa-Lizarralde

Alexander N. Popov

Sandra Delgado

X Zhai

Anzaine Cabo-Bilbao

Helen Pike

Юлиан Молотковский

Dinshu Patel

Rick Brown

Lucy Malinina

CICbioGUNE,Bilbao,Spain

ESRF, France

CICbioGUNE,Bilbao,Spain

Hormel Institute, USA

CICbioGUNE,Bilbao,Spain

Hormel Institute, USA

Институт Биоорганической

Химии РАН, Россия

Memorial Sloan-Kettering Center, USA

Hormel Institute, USA

CICbioGUNE,Bilbao,Spain

Спасибо за внимание!