**Структура и динамика пептида HCIQ2c1 морской анемоны *Heteractis crispa* в воде и мембраноподобном окружении**

***Орешков С.Д.1,2, Миронов П.А.1,2, Парамонов А.С.2, Меньшов А.С.3, Кветкина А.Н.2,3***

***Климович А.А.3, Пислягин Е.А3, Лейченко Е.В.2,3, Люкманова Е.Н.1,2,4, Шенкарев З.О.1,2***

*Студент, 6 курс специалитета*

*1Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*2Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия*

*3Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова, Владивосток, Россия*

*4Унивесритет МГУ-ППИ, Шэньчжень, Китай*

*E-mail: seryynut@gmail.com*

Одним из представителей ингибиторов протеаз семейства Кунитц является пептид HCIQ2c1 морской анемоны *Heteractis crispa*. Этот пептид ингибирует активность трипсина и трипсин-подобных ферментов, а также способен ингибировать образование активных форм кислорода и снижать нейротоксический эффект 6-гидроксидофамина на клетки нейробластомы [1]. Кроме того, в опытах in vivo на мышах, была показана способность HCIQ2c1 ингибировать болевые сигналы, связанные с активацией ионного канала TRPA1, что позволяет рассматривать этот пептид в качестве прототипа анальгетиков нового класса. Однако для создания новых биомедицинских препаратов необходимы знания о пространственном строении HCIQ2c1 и механизме его действия на пути передачи болевых сигналов в организме.

В представленной работе методом спектроскопии ЯМР нами впервые установлена пространственная структура рекомбинантного пептида HCIQ2c1 и охарактеризована его внутримолекулярная динамика в воде и в мембраномоделирующей среде мицелл лизо-миристоил-фосфатидилглицерина (LMPG) в пс-нс и мкс-мс временных диапазонах. Центральной частью молекулы HCIQ2c1 является антипараллельный β-лист, образованный β-тяжами Phe19–Asp25 и Lys30–Tyr36, к которому примыкает дополнительный β-тяж Asn45–Phe46. Области основной цепи Val12–Gly17 и Gly37–Asn42 не содержат элементов вторичной структуры, в связи с чем мы обозначили их как Ω1- и Ω2-петли, соответственно. Протяженная Ω1-петля содержит реакционный центр, отвечающий за ингибирование сериновых протеаз, который представляет собой экспонированный в раствор дипептид Arg16–Gly17. Эта пептидная связь устойчива к протеолитической атаке и встречается во многих ингибиторах протеаз семейства Кунитц. Помимо этого, субстратное связывание HCIQ2c1 обеспечивается наличием гидрофобного кластера из боковых цепей остатков Phe19, Pro20, Ile35 и Tyr36, которые взаимодействуют с гидрофобным участком на поверхности протеазы. Высокая подвижность Ω-петель, установленная в ходе анализа данных о релаксации ядер 15N, вероятно, играет существенную роль в ингибиторной активности HCIQ2c1, поскольку позволяет ключевому остатку Arg16 успешно встроиться в активный центр фермента [2].

HCIQ2c1 демонстрирует слабые амфипатические свойства с преобладанием положительного заряда на поверхности. При постепенном добавлении мицелл анионного детергента LMPG в образец пептида наблюдалось изменение интенсивностей и химических сдвигов сигналов остатков из подвижных Ω-петель, что указывает на взаимодействие молекул детергента с этими регионами пептида. Слабое влияние детергента на сигналы из других регионов молекулы HCIQ2c1 указало на низкую аффинность взаимодействия пептид/мицелла.

**Литература**

1. Kvetkina, A. et al. A new multigene HCIQ subfamily from the sea anemone Heteractis crispa encodes Kunitz-peptides exhibiting neuroprotective activity against 6-hydroxydopamine. // Sci. Rep. 2020. Vol. 10, P. 4205-4219.

2. Ranasinghe, S., McManus, D. P. Structure and function of invertebrate Kunitz serine protease inhibitors. // Dev. Comp. Immunol. 2013. Vol. 39, P. 219-227.