

Построение трехмерной структуры NS3 белка вируса клещевого энцефалита

Острроверхова Дарья Сергеевна

Студент (специалист)

Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского
Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации,
Саратов, Россия

E-mail: wkfsaratov@yandex.ru

Клещевой энцефалит (семейство Flaviviridae) - одна из самых распространенных и опасных инфекций лесной зоны России. Он передается преимущественно членистоногими (клещами и комарами), вызывая у человека острое инфекционное заболевание, характеризующееся лихорадкой, интоксикацией и поражением центральной нервной системы. Известно 3 субтипа вируса: дальневосточный, европейский и сибирский. Установлено, что вирус клещевого энцефалита дальневосточного субтипа вызывает наиболее тяжелые формы заболевания с летальностью до 20-35 %. Геном вируса содержит семь неструктурных белков (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B и NS5). Белок NS3 является необходимым компонентом в репликации жизненного цикла вируса. Для исследования был выбран высокопатогенный штамм Dalnegorsk дальневосточного субтипа.

Цель работы — построение трехмерной структуры белка NS3 из вируса клещевого энцефалита штамма Dalnegorsk. Поиск структурных доменов белка, необходимых для его функционирования, проводили с использованием компьютерных программ и баз данных.

Аминокислотная последовательность белка NS3 вируса клещевого энцефалита штамма Dalnegorsk была получена из банка данных NCBI в формате FASTA (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov> ID: ACJ38115).

Используя BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) был произведен поиск структурно сходных последовательностей. Парные выравнивания проводили на сервере GeneBee-Molecular Biology Server (<http://www.belozersky.msu.ru>) с помощью программы AliBee-Multiple alignment.

Поиск кристаллических структур производился на сервере PROTEIN DATA BANK (<http://www.rcsb.org>). Для моделирования по гомологии использовался сервис SWISS-MODEL(<http://swissmodel.expasy.org/>), с созданием файла-project в программе Swiss-PdbViewer (<http://kr.expasy.org/spdbv/>). С помощью UCSF Chimera (<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>) произведена визуализация полученной модели.

Для определения структурных доменов вирусного белка NS3 использовали базу данных белковых семейств Pfam (<http://pfam.sanger.ac.uk/search>)

Результаты. Установлено, что в настоящее время нет трехмерной модели белка NS3 из штамма Dalnegorsk Protein Data Bank. Белок имеет длину в 3414 а.о. При поиске родственных последовательностей в BLAST наиболее высокую идентичность показала последовательность белка NS3 вируса Денге. Кристаллическая структура NS3 из вируса Денге доступна разрешением в 2,2 Å; (Protein Data Bank:2WHX) и была использована в качестве структуры шаблона для создания 3D модели. С помощью сервера SWISS-MODEL была построена трехмерная модель белка. Выравнивание, сделанное программой Swiss-PdbViewer при создании файла Project, получилось не самым оптимальным, в отличие от выравнивания, производимого программой AliBee. Построенная по гомологии трехмерная модель белка NS3 штамма Dalnegorsk, показала 57% идентичности с кристаллической структурой NS3 вируса Денге.

В результате поиска структурных доменов вирусного белка NS3 штамма Dalnegorsk было обнаружено, что последовательность содержит в себе три домена. Первый домен является флавивирусной сериновой протеазой, принадлежит классу пептидаз (Peptidase) и расщепляет вирусный полипротеин на индивидуальные белки (Flavivirus NS3 serine protease). Второй домен исследуемого белка является фантомным белком (DEAD domain), относящимся к семейству Flavi_DEAD. Его функция неизвестна. И геликаза (Helicase conserved C-terminal domain) — это третий домен исследуемого белка. Таким образом, белок NS3 - это многофункциональный белок, включающий в себя все эти три домена.