

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПЕПТИДОВ СЛИЯНИЯ FP1 И FP2 S-БЕЛКА SARS-COV-2 НА ГЕОМЕТРИЧЕСКИЕ И БАРЬЕРНЫЕ СВОЙСТВА МЕМБРАН

Василенко Е.О. (НИИ СБМ Роспотребнадзора, МФТИ), **Сумарокова М.В.** (НИИ СБМ Роспотребнадзора)

Научный руководитель – кандидат физико-математических наук, заведующий лабораторией биоэлектрохимии Башкиров П.В.
(НИИ СБМ Роспотребнадзора)

Введение. Слияние мембран играет важную роль во многих биологических процессах, в том числе определяет эффективность инфицирования клетки оболочечными вирусами. Объединения мембранных компартментов реализуется через формирование промежуточных сильно-искривленных не-бислойных липидных структур, и поэтому имеют высокий активационный барьер [1]. Белки, чья функциональная активность сопряжена с преодолением этого барьера — катализом слияния мембран, называются белками слияния [2]. Одним из таких белков является S-белок коронавируса SARS-CoV-2 [3]. В процессе вирусного инфицирования происходит конформационная перестройка S-белка, в результате которой специализированные участки белка, так называемые пептиды слияния (FP1 и FP2) внедряются и закрепляются в гидрофобной области клеточной мембраны. Дальнейшее изменение конформации S-белка обеспечивает выгибание клеточной мембраны и сближение ее с вирусной. При этом в деформируемой области должна произойти локальная потеря структурной устойчивости липидного бислоя, необходимая для инициации объединения клеточной и вирусной мембран. Однако какую роль, кроме функции гарпуна, в этом процессе могут играть пептиды слияния, не установлено [4]. Хотя известно, что многие амфипатические пептиды могут оказывать сильное влияние на структуру, прочность и упругие свойства липидного бислоя. В нашей работе исследовано влияние двух синтезированных пептидов слияния (FP1 и FP2) S-белка SARS-CoV-2 на геометрические и барьерные свойства мембран.

Основная часть. В качестве модельных мембран нами использовались бислойные липидные мембраны (БЛМ) и гигантские однослойные везикулы (ГОВ), следующего состава DOPC (1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine) : DOPS (1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phospho-L-serine) : Chol (холестерол) = 50 : 30 : 20. Для исследования влияния пептидов на барьерные свойства мембран измерялась зависимость удельной проводимости БЛМ от объемной концентрации пептидов в омывающем растворе. БЛМ формировали на отверстиях в тефлоновой пленке, разделяющей два отсека, заполненных раствором электролита (150 mM KCl, 5 mM Hepes, 1 mM EDTA pH =7.4). Измерение величины ионного тока, текущего через БЛМ, проводили с помощью электрофизиологического усилителя Axon 200B в режиме фиксации потенциалов ($V = 50$ мВ) [5]. Установлено, что добавление FP1 в объемной концентрации около 7 мкМ приводило к образованию проводящих дефектов в мембране, а при концентрации выше 8 мкМ происходило разрушение мембраны. FP2, наоборот, не оказывал никакого влияния на ионную проницаемость мембраны в всем диапазоне исследуемых концентраций. Важно, что наличие FP2 в растворе оказывало влияние на активность FP1, ингибируя его дестабилизирующую мембрану активность. Так, в присутствии FP2 образование проводящих дефектов и разрушение мембраны происходило при концентрациях FP1, начиная примерно с 8 мкМ и 15 мкМ соответственно. Дестабилизирующая активность FP1 подтверждалась и методами конфокальной микроскопии в экспериментах с ГОВ. В тоже самое время FP2 приводил к деформации слабо натянутых мембран ГОВ, индуцируя их тубуляцию.

Выводы. Полученные экспериментальные результаты позволяют точнее установить роли FP1 и FP2 в катализе слияния клеточной и вирусной мембран. Наши данные позволяют предположить о наличии синергизма в действии этих двух пептидов слияния, находящихся в непосредственной близости друг от друга в S-белке SARS-CoV-2. В то время как FP2 способствует искривлению мембраны, FP1 провоцирует образование в ней дефектов и потерю устойчивости ее бислоидной структуры. Оба эффекта со-направлены на уменьшение энергетического барьера на слияния клеточной и вирусной мембраны. Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 22-15-00265.

Список использованных источников:

1. François-Martin C., Rothman J. E., Pincet F. Low energy cost for optimal speed and control of membrane fusion //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2017. – Т. 114. – №. 6. – С. 1238-1241.
2. Sardar A. et al. Lipid and lipidation in membrane fusion //The Journal of Membrane Biology. – 2022. – Т. 255. – №. 6. – С. 691-703.
3. Jackson C. B. et al. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells //Nature reviews Molecular cell biology. – 2022. – Т. 23. – №. 1. – С. 3-20.
4. Tang T. et al. Coronavirus membrane fusion mechanism offers a potential target for antiviral development //Antiviral research. – 2020. – Т. 178. – С. 104792.
5. Bashkirov P. V. et al. Reconstitution and real-time quantification of membrane remodeling by single proteins and protein complexes //Nature Protocols. – 2020. – С. 1-27.