



УДК 577.32

# ТРАНСМЕМБРАННЫЕ ДОМЕНЫ БИТОПНЫХ БЕЛКОВ – КЛЮЧ К ПОНИМАНИЮ КЛЕТОЧНОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ

© 2024 г. А. А. Полянский\*, Р. Г. Ефремов\*\*, \*\*, \*\*\*, #

\* ФГБУН “Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова” РАН, Россия, 117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

\*\* Национальный исследовательский университет Высшая школа экономики, Россия 101000 Москва, ул. Мясницкая, 20

\*\*\* Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Россия, 141701 Долгопрудный, Институтский пер., 9/3

Поступила в редакцию 08.12.2023 г.

После доработки 09.12.2023 г.

Принята к публикации 10.12.2023 г.

В работе систематически представлены результаты, полученные авторами с помощью вычислительных методов и подкрепленные экспериментальными биофизическими данными в ходе многолетних исследований битопных мембранных белков (БМБ) – важнейших участников клеточной сигнализации. Представленный материал не претендует на роль обзора, поскольку авторы не ставили своей задачей скрупулезно изложить состояние проблемы и дать исчерпывающую информацию из литературных источников. Скорее это эссе, в котором изложено понимание авторами базовых принципов организации трансмембранных доменов (ТМД) белков и их роли в функционировании клетки на основании полученного опыта исследований БМБ. Среди основных вопросов, которым посвящена работа, – тонко регулируемые процессы олигомеризации ТМД и непосредственный вклад в нее динамического мембранного окружения, центральная роль ТМД в функционировании рецепторных систем клетки и взаимосвязь всех компонентов белок-мембранных комплексов в передаче сигналов в норме и при патологиях.

*Ключевые слова:* мембранные белки, олигомеризация, молекулярно-биофизическая платформа, молекулярная динамика, “мембранный ответ”, белок-липидные взаимодействия, аллостерическая коммуникация в белках

**DOI:** 10.31857/S0132342324040048, **EDN:** MXDGKC

## СОДЕРЖАНИЕ

1. ВВЕДЕНИЕ	399
2. БИТОПНЫЕ МЕМБРАННЫЕ БЕЛКИ – УНИКАЛЬНАЯ СИСТЕМА В ИССЛЕДОВАНИИ ТРАНСМЕМБРАННЫХ ДОМЕНОВ	400
3. УНИВЕРСАЛЬНЫЙ ПРИНЦИП УПАКОВКИ ТРАНСМЕМБРАННЫХ СПИРАЛЕЙ	401
4. АДАПТАЦИЯ К МЕМБРАННОМУ ОКРУЖЕНИЮ И “МЕМБРАННЫЙ ОТВЕТ”	403

Сокращения: БМБ – битопный мембранный белок; БР – бактериородопсин; МБ – мембранный белок; МД – молекулярная динамика; ПХ – перехватчик; ТМ – трансмембранный; ТМД – трансмембранный домен; ТМС – трансмембранный сегмент; РСА – рентгеноструктурный анализ; РТК – рецепторная тирозинкиназа; ЭМ – электронная микроскопия; GPCR – рецепторы, сопряженные с G-белком (G-protein coupled receptor); PDGFRA – рецептор тромбоцитарного фактора роста (Platelet-derived growth factor receptor A).

# Автор для связи: (тел. +7 (903) 743-16-56; эл. почта: efremov@nmr.ru).

5. АКТИВИРУЮЩИЕ ТРАНСМЕМБРАННЫЕ МУТАЦИИ	404
6. ДИНАМИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ТРАНСМЕМБРАННЫХ ДИМЕРОВ, АЛЛОСТЕРИЧЕСКАЯ КОММУНИКАЦИЯ И ПЕРЕДАЧА СИГНАЛА	405
7. БИОМЕДИЦИНСКИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ – “МОЛЕКУЛЫ-ПЕРЕХВАТЧИКИ”, НАЦЕЛЕННЫЕ НА ТРАНСМЕМБРАННЫЕ ДОМЕНЫ БИТОПНЫХ БЕЛКОВ	407
8. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	408
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	409

## 1. ВВЕДЕНИЕ

Выбор темы работы для ее представления в настоящем специальном номере журнала “Биоорганическая химия”, посвященном 90-летию со дня рождения академика Ю.А. Овчинникова, не случаен. Так, именно Юрий Анатольевич, будучи директором ИБХ АН СССР, в конце 1970-х – начале 1980-х гг. инициировал и очень активно, в свойственной ему манере, поддерживал проведение в ИБХ и в смежных научных организациях междисциплинарных исследований мембранных белков (МБ). Можно смело утверждать, что это был настоящий перелом в формулировке планов НИР Института и организаций, работающих в данной области, включая институты биоорганической химии в других городах и республиках СССР. В результате большая часть лабораторий ИБХ начала движение этим курсом. Кроме того, и сам журнал “Биоорганическая химия”, созданный Юрием Анатольевичем в 1975 г., с тех пор является “хранителем традиций” научного поиска в изучении МБ, основы которого были заложены еще первым составом редколлегии журнала под руководством юбиляра.

В отличие от водорастворимых белков (глобулярных, неупорядоченных, структурных и проч.), МБ имеют в своем составе участки (домены), взаимодействующие с клеточной мембраной либо с мембранами клеточных органелл. По типу связывания с мембраной МБ делятся на интегральные, периферические и так называемые “белки-трансформеры”. В настоящей работе речь пойдет о первых из них, хотя многие из рассматриваемых ниже принципов организации МБ и подходов к их изучению применимы и к двум другим классам. Разнообразные интегральные МБ, несколько тысяч которых закодировано в геноме человека [1],

обладают общим свойством – наличием трансмембранного (ТМ) домена (ТМД). Этот домен, вне зависимости от сложности своей структурной организации, отвечает за ряд базовых функций: локализацию в мембране, связь между цитоплазматическими и внеклеточными доменами, а также гомо- и гетероолигомеризацию. Необходимо отметить, что многие представители этого класса – важные элементы клеточной сигнализации, в которой ТМД, как это будет показано ниже, играют ключевую роль.

Первые успехи в установлении пространственной структуры интегральных МБ были достигнуты для белков, обладающих большими по размеру ТМД, состоящими как минимум из нескольких  $\alpha$ -спиралей. Так, в фотореакционном центре *Rhodospseudomonas viridis* (первая пространственная структура белка с ТМД [2]) их по пять на субъединицу, в бактериородопсине (БР) и родопсине – по семь и т.д. Кроме того, на основании экспериментальных данных были построены модели поринов, обладающих полностью  $\beta$ -структурными ТМД. В этих случаях именно размер мембраносвязанных участков способствовал получению структурных данных с атомарным разрешением. Во-первых, в массивных ТМД наблюдается лишь относительно небольшая конформационная подвижность – за счет сильных взаимодействий между ТМ-сегментами (ТМС), что облегчает сбор экспериментальной информации. Во-вторых, структура таких прочно упакованных комплексов в гораздо меньшей степени зависит от особенностей водно-липидного окружения, хотя, конечно, его роль нельзя исключать. Это упрощает реконструкцию МБ в мембраноподобных средах при проведении структурных исследований. Необходимо отметить, что на этом

этапе основное внимание исследователей было сосредоточено на структуре, динамическом поведении, межмолекулярных взаимодействиях самих белков, в первую очередь, их ТМД. Так, детально были изучены молекулярные процессы, обеспечивающие фоторецепцию, в частности были выявлены и охарактеризованы, в том числе путем установления в экспериментах, пространственные структуры интермедиатов фотоциклов БР и зрительного родопсина (Р) [3, 4].

Наряду с экспериментальными подходами и на их основе активно развивались и методы молекулярного компьютерного моделирования. И в этом случае акцент делали на анализе свойств белка, а мембранное окружение часто рассматривали лишь как инертную матрицу, обладающую центральным гидрофобным слоем и более полярными интерфейсами на границе с водой. При этом считали, что мембрана в основном нужна для корректной адаптации ТМД белка, обеспечивая сохранение нативной структуры как его самого, так и внемембранных участков, задает правильную мембранную топологию белка и дает ему возможность необходимым образом взаимодействовать с партнерами в клетке – другими белками, лигандами и проч. Со временем, по мере накопления структурных данных, стало ясно, что помимо указанных выше трудностей и ограничений экспериментальных методов, понимание важнейших деталей структурной организации и, следовательно, механизмов работы МБ – гораздо более сложная задача, чем представлялось ранее. Например, одним из достижений в изучении белков с массивными ТМД стала идентификация их промежуточных состояний – интермедиатов, обладающих своими структурными особенностями, а также описание с высоким пространственно-временным разрешением переходов между ними. Однако для большинства других классов МБ решение этой задачи все еще оставалось недостижимым, хотя любой МБ, участвующий в передаче сигналов и информации, транспорте ионов и вещества, несомненно, обладает набором подобных промежуточных состояний. Последние, однако, не поддаются простой идентификации, как, например, в случае фоторецепции. Одна из основных проблем – отсутствие методов фик-

сации интермедиатов в состояниях, пригодных для структурных исследований современными методами. Более того, во многих случаях ТМД не статичны. Примерами служат белки с небольшим числом ТМС, претерпевающие в ходе работы сильные конформационные изменения, включая участие в межмолекулярных взаимодействиях с партнерами по клеточной мембране, что особенно характерно для сигнальных рецепторов. При этом водно-липидное окружение – динамическая среда, являющаяся активным участником процессов упаковки и функционирования белков, и ее влияние особенно значимо для указанных выше МБ. Однако эффекты среды необходимо учитывать и для белков с обширными ТМД – как было показано недавно, даже одиночные молекулы липидов клеточной мембраны могут играть ключевую роль в работе ионных каналов, например, таких как белки семейства TRP (Transient Receptor Potential), являющихся термочувствительными сенсорами [5].

## 2. БИТОПНЫЕ МЕМБРАННЫЕ БЕЛКИ – УНИКАЛЬНАЯ СИСТЕМА В ИССЛЕДОВАНИИ ТРАНСМЕМБРАННЫХ ДОМЕНОВ

Принимая во внимание всю сложность задач, стоящих перед исследователями, стремящимися расшифровать с атомистическими деталями организацию и механизмы действия МБ, представляется разумным начать работу, выбрав в качестве объектов наиболее “простые” с точки зрения структуры объекты – битопные МБ (БМБ), имеющие в своем составе единственный ТМД в  $\alpha$ -спиральной конформации длиной  $\sim 20$ – $30$  а.о. В случае рецепторных тирозинкиназ (РТК), типичных представителей данного класса, это составляет всего несколько процентов от общей длины последовательности (например, в рецепторе фактора роста тромбоцитов, PDGFRA – 1089 а.о.). И в то же время, несмотря на свой незначительный размер, ТМД играет ключевую роль в функционировании РТК – достаточно одной точечной замены в его последовательности, чтобы вызвать патологическую активацию рецептора [6, 7], которая может затем привести к развитию онкологических и других заболеваний. Иными словами, незначитель-

ное изменение в ТМД способно кардинально влиять на характер клеточной сигнализации. При этом кажущаяся простота БМБ с лихвой компенсируется высокодинамичным характером их поведения в мембране – они формируют, как правило, непрочные комплексы с белками-партнерами. Кроме того, небольшие размеры ТМД обуславливают значительное влияние на их поведение окружающей мембраны, причем вклад взаимодействий с водно-липидной средой может превалировать над таковым для белок-белковых контактов. Свообразным “триггером”, способствовавшим началу работ по теме исследований БМБ, стал анализ единственной на тот момент пространственной структуры ТМ-димера гликофорина А человека (GrA) [8]. Отметим, что по перечисленным выше причинам указанная модель, полученная К. MacKenzie методом спектроскопии ЯМР в мицеллах детергента, увидела свет значительно позднее (в 1997 г.), чем первые модели фотореакционного центра (1985) [2], BR (1975) [9] и других белков с массивными ТМД.

БМБ – обширный класс МБ, по данным базы Uniprot [10] в геноме человека содержится  $\sim 10^3$  последовательностей I типа (ориентация  $N \rightarrow C$  из внеклеточного пространства в цитоплазму), среди которых 64 – РТК, а также  $\sim 300$  последовательностей II типа (ориентация  $C \rightarrow N$  из внеклеточного пространства в цитоплазму). Поэтому, с одной стороны, изучение таких спиральных ТМД важно для понимания функции большого числа МБ, и в то же время минимально возможный размер этой системы делает ее уникальным исследовательским объектом для установления фундаментальных принципов организации ТМД и их роли в функционировании клетки. Такие ТМ-спирали обладают ключевой способностью к ассоциации в мембране. Например, в функциональном состоянии РТК обычно находятся в виде димеров, включая их ТМД. Димер ТМ  $\alpha$ -спиралей – “минимальная функциональная единица”, он демонстрирует все базовые принципы работы, свойственные более сложноорганизованному ТМД белков: специфическую ассоциацию (упаковка в гомо- и гетероолигомеры), возмущение бислоя и адаптацию к нему, переключение между разными состояниями, активирующие ТМ-мутации, и,

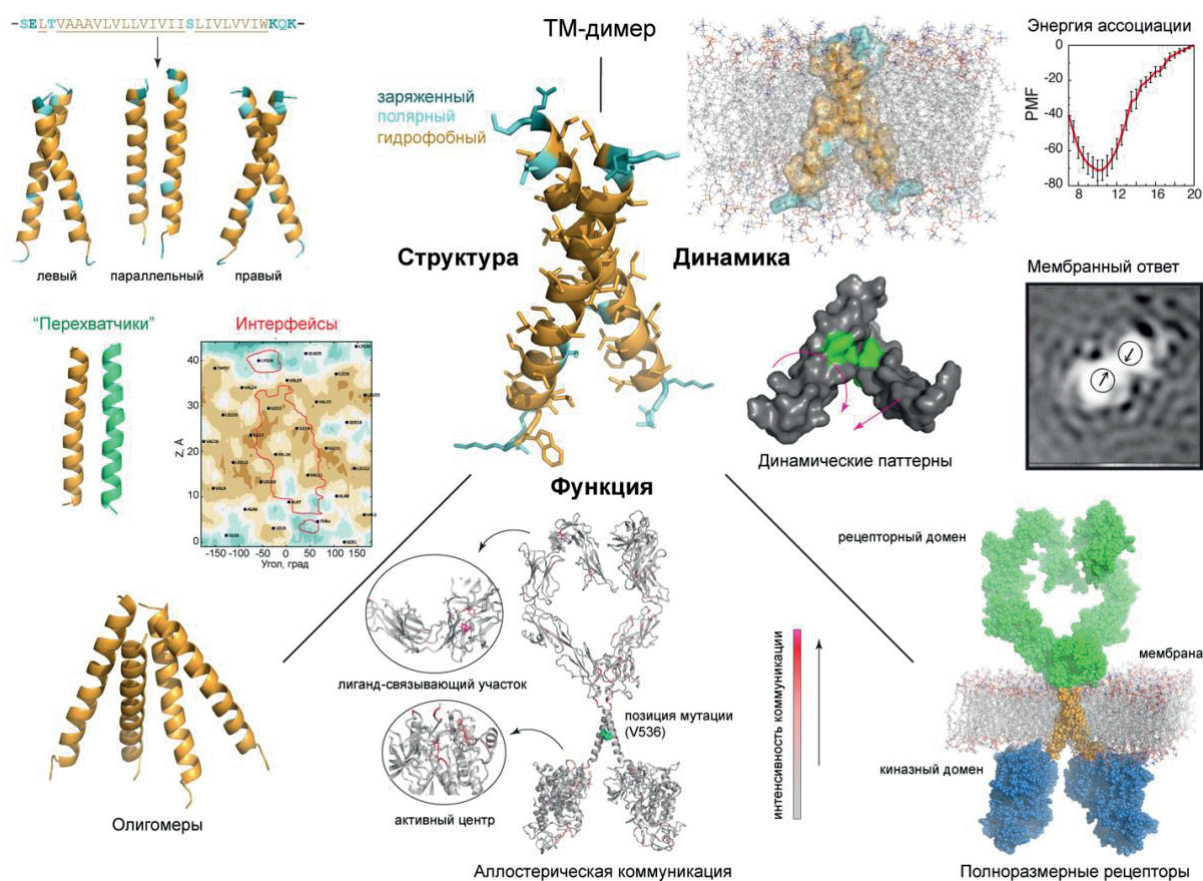
наконец, передачу сигнала и аллостерическую коммуникацию между внеклеточными и цитоплазматическими доменами МБ (например, рецепторным и киназным в случае РТК). Именно эти базовые принципы, выявленные в ходе изучения спиральных ТМД, и рассмотрены ниже.

### 3. УНИВЕРСАЛЬНЫЙ ПРИНЦИП УПАКОВКИ ТРАНСМЕМБРАННЫХ СПИРАЛЕЙ

Уже в одних из первых исследований МБ, выполненных на BR, был обнаружен интересный феномен – изолированные  $\alpha$ -спирали в липидном бислое способны формировать укладку, сходную с таковой в исходном ТМД белка [11]. Это указывает на то, что непосредственная организация ТМД – взаимное расположение спиралей, области формирования контакта между спиральями (интерфейсы) – определяется не столько специфической работой клеточных машин, отвечающих за сборку МБ в мембране (транслокон) [12], сколько аминокислотной последовательностью спиралей и липидным окружением. Таким образом, существуют базовые физико-химические принципы, которые определяют, каким образом спирали будут взаимодействовать в мембране. В простейшем случае такие принципы будут определять организацию спирального ТМ-димера. Необходимость решения практической задачи предсказания пространственной конфигурации димеров ТМД для битопных белков потребовала определения ключевых принципов упаковки спиралей, которые были реализованы в алгоритме PREDDIMER [13]. Он позволяет предсказывать ансамбль пространственных димерных конфигураций для заданных аминокислотных последовательностей. В отличие от методов, выявляющих разные мотивы димеризации в ТМ-последовательностях (например, GxxxG [14]) и на основании этого реконструирующих пространственные структуры димеров, в PREDDIMER задача решается в общем виде, без непосредственной привязки к анализу белковых последовательностей. Димеризация в данном случае представлена как поиск оптимального соответствия между взаимодействующими  $\alpha$ -спиральями, описываемыми в виде цилиндрических поверхностей с картированными физико-химическими свойст-

вами. Под соответствием понимается комплементарность рельефа (способность сформировать плотный контакт) и гидрофобности поверхности в области контакта. Кроме того, экспонированная поверхность димера должна соответствовать липидному окружению. Данные принципы, заложенные в основу алгоритма, отражают характер взаимодействия в мембранном окружении и, как будет показано далее, имеют сходную с гидрофобным эффектом энтропийную природу. В данном случае  $\alpha$ -спирали в димере упаковываются таким образом, чтобы минимизировать шероховатость поверхности и соответствующее возмущение бислоя (см. далее), и при этом полярные остатки стремятся взаимодействовать друг с другом, не имея более выгодных партнеров внутри бислоя. Несмотря на кажущуюся простоту, алгоритм показал свою эффективность не только в

предсказании ТМ-димеров, но и тримеров [15–17], тетрамеров [18], эффекта точечных мутаций [19], а также в дизайне специфических пептидных модуляторов (“перехватчиков”, см. далее), нацеленных на ТМ-домены [20] (рис. 1). Это, в первую очередь, иллюстрирует относительную универсальность принципов упаковки спиралей, использованных в алгоритме. Подобная универсальность позволяет работать с любыми аминокислотными последовательностями (например, созданными *de novo*), а не только с биологическими, для которых существует возможность получить множественные выравнивания с гомологами, как, например, в популярном алгоритме предсказания белковых структур с использованием нейронных сетей AlphaFold [21, 22]. Важная особенность алгоритма PREDDIMER – не поиск уникального единичного решения, а выдача ранжированного



**Рис. 1.** Структурные, динамические и функциональные аспекты исследования ТМ-доменов БМБ с помощью молекулярно-биофизических методов моделирования. Для иллюстрации использованы ТМД и полноразмерный рецептор PDGFRA.

набора реалистичных конфигураций ТМ-димера (лево- и правозакрученные, параллельные, рис. 1) для заданных последовательностей, реализация которых будет определяться конкретным липидным окружением (см. далее).

#### 4. АДАПТАЦИЯ К МЕМБРАННОМУ ОКРУЖЕНИЮ И “МЕМБРАННЫЙ ОТВЕТ”

Исследования динамического поведения ТМ-димеров в липидных бислоях с помощью методов моделирования (в первую очередь, молекулярной динамики, МД) и спектроскопии ЯМР выявили непосредственное влияние липидного окружения на соответствующую ему конфигурацию спиралей в димере [23–25]. Например, соотношение между “гидрофобной толщиной” бислоя и длиной ТМ-участка может определять топологию димера и его наклон в мембране [23]. Более того, в зависимости от параметров бислоя, энергетически выгодными могут быть разные димерные состояния (например, с малым или большим углом скрещивания между спиральями) из доступного набора, полученного на основании алгоритма PREDDIMER [24]. Таким образом, смена липидного окружения может приводить к смене конфигурации ТМ-димера [24] и, например, к соответствующей активации рецептора [25]. Известно, что ряд РТК активен только в определенном мембранном окружении (липидные рафты) [26–29]. Следовательно, ТМ-димер – своеобразный сенсор свойств липидной среды и то же время триггер разных состояний рецептора в процессе сигнализации. При этом последовательности ТМД кодируют не какое-то уникальное единичное димерное состояние, а статистический ансамбль различных состояний, реализация которых зависит от энергетического эффекта димеризации в конкретном липидном окружении [24]. Поэтому полноценное рассмотрение ТМ-димеров возможно лишь на уровне ансамблей состояний, что дает важную теоретическую основу для подхода, реализованного в алгоритме PREDDIMER. Наличие ансамбля состояний ТМ-димера дает возможность понимания механического вклада ТМД в функционирование рецепторов. Например, наиболее энергетически выгодное состояние ТМ-димера может соответствовать его конфигурации в неактивном рецепторе, в то время

как активная конфигурация оказывается отделена существенным энергетическим зазором, а также возможными промежуточными состояниями. В таком случае переход в активное состояние требует дополнительного энергетического вклада, например, вследствие перестройки рецепторных доменов при связывании лиганда. В то же время благодаря возмущению, возникающему в результате внесения точечной мутации [30] (см. далее), или изменению среды [24] может происходить перераспределение состояний в доступном ансамбле, в результате чего наиболее выгодным становится активное состояние. Рассмотрение ТМ-димеров на уровне ансамблей состояний, а не единичной статичной конфигурации, дает фундаментальную основу в определении роли ТМД в процессе активации рецепторов, в том числе вследствие патологических ТМ-мутаций (см. далее).

Детальное понимание физического механизма, по которому бислой влияет на энергетику различных состояний и наиболее вероятную конфигурацию ТМ-димера, требует изучения так называемого “мембранного ответа”, или специфического возмущения мембраны, вызванного присутствием ТМС (рис. 1) [24, 25, 31]. Например, ТМ-димер может вызывать упорядочивание (“замораживание”) липидного окружения, что отражается на невыгодном энергетическом вкладе мембраны в энергию димеризации, в то же время в случае соответствия между конфигурацией ТМ-димера и параметрами бислоя наблюдается обратный эффект [24]. Более тонкие аспекты мембранного ответа связаны с возмущением липидного окружения внутри бислоя (гомогенности упаковки гидрофобных цепей), вносимым экспонированной поверхностью ТМ-спиралей в мономером и димерном состояниях. Например, заметное уменьшение степени гетерогенности упаковки липидов (возмущения) в процессе димеризации за счет изменения свойств экспонированной поверхности ТМ-спиралей связано с увеличением конфигурационной энтропии липидов и выгодным вкладом мембраны в свободную энергию димеризации [31]. Интересно, что данный эффект зависит от аминокислотного состава ТМ-спирали и особенно выражен для ТМ-димеров, имеющих протяженный интерфейс димеризации, который организован

по принципу “лейциновой молнии” (leucine zipper), в то время как ассоциация спиралей с преобладанием аминокислотных остатков с малыми боковыми группами может приводить к снижению конфигурационной энтропии липидов и быть менее выгодной [31]. Таким образом, оптимизация экспонированной поверхности ТМ-димера в соответствии с липидным окружением, которая влияет на характер упаковки спиралей и их конфигурацию в димере, имеет выраженную энтропийную природу. Адаптация к липидному окружению и соответствующий энтропийный эффект могут также лежать в основе переключения между неактивным и активным состоянием ТМ-димера, что указывает на возможность непосредственного участия мембраны в работе рецептора [25].

## 5. АКТИВИРУЮЩИЕ МУТАЦИИ В ТРАНСМЕМБРАННЫХ ДОМЕНАХ

Спонтанная активация рецепторов (в отсутствие сигнала, например, специфического лиганда) также может быть следствием точечных аминокислотных замен в их ТМ-доменах. Например, для ряда РТК известны ТМ-мутации, которые активируют рецептор, в то время как никакого реального взаимодействия с молекулой-активатором (например, фактором роста) не наблюдается [6, 7, 32]. Такие нарушения в системе клеточной сигнализации, когда, например, мутантная РТК “самовольно” инициирует каскады, активирующие процессы роста и деления клетки без “команды” извне, могут зачастую приводить к развитию наследственных заболеваний, а также разных форм рака [6, 7, 32]. Поэтому выявление механизмов активации рецепторов вследствие патологических наследственных и фенотипических мутаций в их ТМ-доменах – не только важная фундаментальная, но и социально значимая задача. Важным этапом в решении этой задачи стало понимание, что требуется рассмотрение эффекта мутаций на уровне ансамблей ТМ-димеров [19, 30], а также в различных молекулярных контекстах (рис. 1) – изолированные ТМ-димеры [32], встроенные в модельные мембраны [19, 30] олигомеры более высокого порядка и полноразмерные рецепторы [18] (см. далее). Внесение точечной замены может влиять на упаковку ТМ-спиралей в

димере, например, нарушая плотный контакт между спиралью в нативных конфигурациях и делая более выгодно упакованными альтернативные конфигурации димеров (изменение величины угла скрещивания между осями или типа закрутки спиралей). Это, в свою очередь, изменяет мембранный ответ в случае мутантных ТМ-димеров. Описанные эффекты лежат в основе влияния ТМ-мутаций на энергию ассоциации спиралей в ансамбле доступных состояний. Этот эффект можно оценить экспериментально в достаточно грубом приближении (например, системы ТОХСАТ [33]), а также детально исследовать помощью расчетов Монте–Карло и МД димерных состояний в модельных мембранах. В последнем случае атомистический уровень рассмотрения позволяет предложить физико-химический механизм активирующих мутаций. Например, такие ТМ-мутации могут вызвать перераспределение в ансамбле состояний и уменьшить энергетический зазор между неактивной и активной конфигурацией димера, увеличивая вероятность спонтанного переключения [30]. Более того, если в нативном ансамбле обычно существует доминантное (неактивное) состояние, отделенное от других состояний энергетическим зазором, то вследствие мутации может наблюдаться вырожденность ансамбля с большей вероятностью переключений между разными состояниями. Этот принцип можно проиллюстрировать с помощью конструирования *de novo* активирующих мутаций в ТМД РТК, используя в качестве критерия дизайна степень вырожденности ансамбля мутантного димера [24].

Активирующие мутации могут влиять не только непосредственно на упаковку ТМ-спиралей в димере, но и на способность формировать олигомеры более высокого порядка. Для изолированных мутантных ТМ-доменов РТК может наблюдаться тенденция к олигомеризации [24], отсутствующая у нативного домена, и, например, к формированию стабильных тетрамеров [18]. Это позволяет предложить также возможный биохимический механизм активации рецепторов с помощью ТМ-мутаций вследствие увеличения их склонности к олигомеризации. В таких олигомерах рецепторов повышается вероятность спонтанной реакции автофосфорилирования в резуль-

тате аномально высокой локальной концентрации киназных доменов и большего числа вариантов взаимной ориентации [18], что может также лежать в основе неспецифической (патологической) сигнализации. Интересно, что для многих патологических мутаций в белках различного типа наблюдается эффект повышения склонности к агрегации [34]. Поэтому такой механизм действия мутаций, видимо, является общим для многих систем клетки.

Необходимо отметить, что помимо энергетических эффектов ТМ-мутаций наблюдается непосредственное влияние таких замен на динамическое поведение спиралей в димере, а также на возможную коммуникацию внутри рецептора (см. далее). Поэтому понимание механизма действия той или иной мутации требует также исследования динамического поведения ТМ-димеров.

#### 6. ДИНАМИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ТРАНСМЕМБРАННЫХ ДИМЕРОВ, АЛЛОСТЕРИЧЕСКАЯ КОММУНИКАЦИЯ И ПЕРЕДАЧА СИГНАЛА

Рассматриваемые ТМ-димеры представляют собой динамическую систему, в которой индивидуальные спирали обладают вращательными и поступательными степенями свободы. Характер движений спиралей в ТМ-димере зависит от ряда факторов, таких как аминокислотный состав (например, присутствие полярных, заряженных и ароматических остатков), пространственная конфигурация (угол скрещивания и закрутка спиралей), липидное окружение (гидрофобная толщина, фазовое состояние, химический состав) и молекулярный контекст (изолированный ТМ-димер, полноразмерный рецептор). В изолированном димере в отсутствие внешних механических импульсов, как в полноразмерном рецепторе, движения спиралей модулируются непосредственно мембраной. Наряду с биофизическими методами, такими как ЯМР-спектроскопия, ключевым инструментом исследования динамического поведения подобных систем выступают расчеты МД, которые позволяют моделировать движения в ТМ-димере с характерными временами в пико-микросекундном диапазоне и с атомарным разрешением. Этот метод позволяет выяв-

лять характеристические паттерны подвижности ТМ-спиралей (рис. 1). Например, в зависимости от конфигурации димера наблюдаются частичные обратимые повороты спиралей относительно своих осей (движение по типу “шестеренок”), смешение спиралей друг относительно друга вдоль нормали к бислою (движение по типу “поршня”), а также поступательные движения относительно шарнира (движение по типу “ножниц”) [16, 19]. Такой паттерн подвижности определяет характер смещения *N*- и *C*-концевых участков относительно друг друга, а также синхронизацию этих изменений. Так, в случае движения спиралей по типу шестеренок изменения положения *N*-концевых участков полностью согласованы с таковыми в *C*-концевой области [19]. В случае полноразмерной РТК такой паттерн подвижности может играть ключевую роль в передаче сигнала от рецепторных доменов к киназным таким образом, что изменение конфигурации рецепторных доменов через ТМД влияет на взаимную ориентацию киназных доменов и их возможную активацию (автофосфорилирование). С другой стороны, в случае движения по типу ножниц за счет появления шарнира возможно механическое разобщение между *N*- и *C*-концевыми участками и нарушение передачи сигнала. Такое разобщение может возникнуть вследствие точечной мутации, как, например, в случае канцерогенной замены V536E в рецепторе PDGFRA [19, 32]. Замена алифатического остатка на полярный (Glu протонирован в бислое) меняет характер взаимодействия в центре ТМ-димера: вместо слабых ван-дер-ваальсовых контактов появляется “кросс-сшивки” из нескольких водородных связей, выполняющих функцию шарнира. Таким образом, эффект активирующих ТМ-мутаций может быть связан и с нарушением коммуникации внутри рецептора, и с “потерей контроля” над конфигурацией цитоплазматических доменов.

Аллостерическую коммуникацию в общем виде можно представить как обмен информацией между пространственно удаленными участками макромолекулы. Например, в случае РТК (рис. 1) белок (димер в активной форме) состоит из нескольких функциональных блоков, или доменов: рецепторных (внеклеточных), трансмембранных



(ТМ) и киназных (цитоплазматических). В этих доменах можно также выделить дополнительные функциональные элементы. Рецепторные домены имеют модульную организацию и, например, как в случае PDGFRA (рис. 1), состоят из последовательной цепочки пяти иммуноглобулиновых доменов (с сайтом связывания фактора роста во втором домене). Киназный домен, в свою очередь, включает активный сайт, активационную и каталитическую петлю. Гипотетически функционирование рецептора можно представить как передачу изменения конфигурации гибких рецепторных доменов в результате связывания димерного фактора роста через ТМ-область к киназным доменам, которые для активации должны принять асимметричную конфигурацию в димере. По аналогии с концепцией “белок–машина” Д.С. Чернавского, в простейшем виде такой рецептор можно рассматривать как механическую систему, в которой импульс передается вдоль аминокислотной цепи от *N*- к *C*-концу в виде последовательного изменения конфигураций. При этом димерные ТМД–своеобразное “бутылочное горлышко” в коммуникации между рецепторными (регуляторными) и киназными (каталитическими) доменами. Более сложные ТМД, как в случае G-белок-опосредованных рецепторов (GPCR), структурных гомологов БР, также играют ключевую роль в функционировании этих белков: специфические изменения конфигурации ТМД в ответ на связывание различных лигандов могут селективно модулировать взаимодействие с G-белком или аррестином и запускать соответствующие клеточные каскады [35]. Исследования динамических механизмов функционирования рецепторов требуют знания их пространственной структуры в полномасштабном виде. В отличие от более структурированных GPCR, для подвижных битопных белков кристаллографические данные можно получить только для изолированных киназных или рецепторных доменов [36]. Полноразмерная структура (в низком разрешении) может быть исследована с помощью современной электронной микроскопии (ЭМ) и молекулярного моделирования. При этом конфигурация ТМД в димерной РТК обычно недоступна ЭМ, поэтому для реконструкции полнораз-

мерной молекулы необходимо использовать данные ЯМР-спектроскопии [37] и моделирования (например, модели PREDDIMER) [18]. Развитие методов предсказания пространственной структуры белков на основании множественных выравниваний с использованием нейронных сетей (AlphaFold [21]) в сочетании с ЭМ, возможно, позволит более эффективно решать задачу получения пространственной структуры полноразмерных битопных рецепторов в разном олигомерном состоянии. Однако на сегодняшний день применимость AlphaFold для данной задачи ограничена ввиду сложности топологии МБ.

Знание пространственной структуры битопного рецептора в димерном состоянии, например, РТК, дает возможность детально исследовать механизмы коммуникации внутри молекулы, в частности с помощью расчетов МД. Стоит отметить, что такие модельные системы имеют внушительные размеры. Например, в случае рецептора PDGFR (рис. 1) полная МД-система (димер рецептора ~2000 а.о., липидный бислой, ионы и молекулы воды) обладает размерами  $14 \times 14 \times 25 \text{ нм}^3$  и в полноатомном представлении содержит ~0.5 млн атомов. Однако развитие высокопроизводительных вычислительных платформ (в том числе с использованием графических ускорителей) позволяет на сегодняшний день осуществлять МД таких систем в полноатомном разрешении в микросекундном диапазоне [37]. На основании таких расчетов можно описывать характеристические движения в рецепторе и выявлять механические аспекты передачи сигнала, например, с помощью анализа гармонических мод (собственных векторов) [19]. Такой анализ в случае рецептора PDGFRA (рис. 1) показывает, что изменение угла скрещивания ТМ-спиралей и их поворот относительно друг друга сопряжены с изменением взаимной ориентации киназных и рецепторных доменов. Таким образом, данные моделирования непосредственно указывают на то, что полноразмерный димерный рецептор представляет собой динамическую систему сопряженных элементов, в которой изменения конфигурации в одних (например, в ТМД) отражаются на взаимной ориентации остальных. Поэтому модификация динамики ТМ-димера в случае мутации, как было

показано ранее, будет оказывать влияние и на подвижность сопряженных доменов, а также может лежать в основе аллостерического (активирующего) эффекта мутации. Однако эту гипотезу необходимо подтвердить в последующих исследованиях мутантных форм рецепторов.

Детальную картину коммуникации между различными позициями (аминокислотными остатками) внутри рецептора позволяют получать расчеты взаимной информации по данным МД [38]. Взаимная информация – величина, используемая в теории информации, которая позволяет оценивать согласованность между различными позициями в макромолекуле, например, в виде двумерных (2D) матриц попарных значений для всех аминокислотных остатков. Так, для рецептора PDGFRA анализ 2D взаимной информации позволяет выявлять наличие внутри молекулы информационных кластеров – групп остатков, демонстрирующих согласованное изменение степеней свободы и обменивающихся информацией (изменение конфигурации одного сопряжено с изменением структуры других остатков из данного кластера). Интересно, что такие кластеры могут быть перколирующими и пронизывают весь рецептор. Например, в рецепторе PDGFRA такой кластер образуют остатки, обменивающиеся информацией с центральной позицией в ТМД (V536), в которой обнаружена мутация, активирующая Glu (рис. 1). Интересно, что наиболее высокая интенсивность коммуникации в этой позиции наблюдается с рецепторными участками, связывающими фактор роста, а также с активным центром киназного домена, включающего активационную петлю. Таким образом, внутри рецептора можно выявить обширную сеть коммуникации между доменами и оценить непосредственный вклад ТМД в эту коммуникацию. Такой информационный обмен может, например, реализовываться в виде механического сопряжения, как было описано выше. В дальнейшем расчеты взаимной информации по данным МД позволяют детально изучать вклад трансмембранных и других патогенных мутаций в коммуникацию внутри рецепторов и выявлять специфические паттерны активации.

## 7. БИОМЕДИЦИНСКИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ: “МОЛЕКУЛЫ-ПЕРЕХВАТЧИКИ”, НАЦЕЛЕННЫЕ НА ТРАНСМЕМБРАННЫЕ ДОМЕНЫ БИТОПНЫХ БЕЛКОВ

Помимо сравнительной простоты БМБ и их чрезвычайно важной роли в процессах клеточной сигнализации, важен тот факт, что МБ с одним или двумя ТМС потенциально могут сильно реагировать на взаимодействие с внешними мембраносвязанными агентами. Как отмечалось выше, причина кроется в самой природе олигомеров ТМД – их конформационной подвижности и отсутствии прочного связывания. Таким образом, появляется возможность модулирования функции этих белков в клетке путем направленного воздействия на их ТМД, что имеет важное практическое значение в разработке новых подходов современной биомедицины для лечения социально-значимых заболеваний, таких как рак. Подобное вмешательство может иметь различную природу: как с помощью других молекул, влияющих на ТМД, так и опосредованно – за счет изменения эффектов среды. В первом случае речь идет о так называемой концепции “молекул-перехватчиков” (ПХ), в качестве которых выступают как другие ТМ-пептиды (“пептиды-перехватчики”), так и молекулы иной природы, включая, например, низкомолекулярные соединения и проч. К настоящему времени были опубликованы результаты успешного применения пептидов-перехватчиков как для БМБ, так и для ряда других белков с небольшими ТМД, способными к олигомеризации [20, 39, 40]. В роли пептидных ПХ можно применять, например, и мутантные формы ТМС, анализируя их воздействие как на структурно-динамические характеристики димеров, так и на их работу в клетке. В качестве мишени действия ПХ может выступать весь ТМ-димер и/или образующие его индивидуальные  $\alpha$ -спирали. Кроме того, мишенью могут быть и белковые системы, не относящиеся непосредственно к целевому ТМД (например, его примембранные участки); способные взаимодействовать с ним ТМС соседних белков-партнеров и т.д. При выборе стратегии проектирования и применения ПХ возможно несколько вариантов:

1) ПХ образует с мишенью комплекс, более прочный, чем исходный ТМ-димер. В результате ПХ конкурирует за связывание с мономерами природного димера, блокируя (сильно меняя) его работу в клетке. В случае гомодимера речь идет об одном варианте ПХ, а при рассмотрении гетеродимера возможны и две разновидности ПХ, селективно распознающие каждый из мономеров мишени;

2) ПХ связывается с уже сформированным ТМ-димером, полностью не разрушая его, т.е. не замещая один из исходных мономеров. После этого мишень может по-прежнему функционировать, но с измененными характеристиками, например, с параметрами активации/деактивации, отличающимися от свойственных природному рецептору;

3) ПХ непосредственно не взаимодействует с мишенью, а связывается, например, с примембранным участком ТМ-димера либо с ТМД соседних белков. Отметим, что это достаточно распространенный случай, поскольку БМБ, такие как РТК, часто работают “в оркестре”, т.е. большими группами близко расположенных димеров. Подобное взаимодействие может влиять как на структурно-динамические свойства самой ТМ-мишени, так и на свойства ее локального окружения (водно-липидной среды, присутствия рядом других белков и т.д.). В частности, одно из последствий этих процессов – изменение локальной диэлектрической проницаемости среды, в свою очередь, способное сильно менять параметры Н-связей и других взаимодействий с участием ТМ-димера; как следствие, его работа также будет нарушена. К указанному варианту можно отнести и еще слишком мало изученные эффекты аллостерии, за счет которых вызываемые ПХ возмущения в отдалении от мишени потенциально способны повлиять на ее работу в клетке (см. выше).

## 8. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе проиллюстрирована многогранность исследовательских вопросов, в фокусе которых находятся ТМД битопных белков, а также ряд установленных за последние 20 лет принципов их организации и участия в функцио-

нировании МБ. Изучение этих разных аспектов требует привлечения широкого арсенала биофизических и модельных подходов, которые позволяют определять конфигурацию ТМ-димеров, описывать их динамику и энергетические характеристики, стабильность, эффекты мутаций, роль липидного окружения, исследовать аллостерическую коммуникацию и роль ТМД в передаче сигнала, а также проектировать молекулы-перехватчики. В частности, были представлены результаты использования молекулярно-биофизической платформы, созданной в ИБХ РАН для исследования структуры, динамики и функции МБ (преимущественно БМБ), причем в качестве основного экспериментального метода получения структурных данных используется гетероядерная ЯМР-спектроскопия в растворе. Этот подход хорошо себя зарекомендовал в анализе конформационно пластичных олигомеров небольшого размера (димеры, тетрамеры), способных менять упаковку ТМС под влиянием мембранного окружения, ПХ различной природы и т.д. Однако с его помощью не удается получать структурную информацию высокого разрешения для МБ с массивными ТМД – большинства классов рецепторов (включая GPCR), ионных каналов, фотореакционных центров и т.д. Для изучения подобных объектов традиционно применяют методы рентгеноструктурного анализа (РСА), а в последние годы – крио-ЭМ. Учитывая сложность структурной организации этих мезоскопических белок-мембранных систем, а также необходимость расшифровки атомистических деталей их работы в клеточной мембране, применения одних лишь методов РСА и крио-ЭМ совершенно недостаточно. Как обсуждалось выше для БМБ, требуется комплексное изучение проблемы – согласованное применение экспериментальных и вычислительных методов. Именно поэтому в мире созданы и давно действуют международные консорциумы по изучению мембранных белков – как глобальные (Membrane Protein Structural Biology Consortium), так и региональные [41]. Отметим, что такие объединения существуют в том числе по отдельным аспектам проблематики, например, посвященным анализу МБ методами

МД (Membrane Protein Structural Dynamics Consortium).

Многолетний исследовательский опыт авторов показывает, что такое комплексное рассмотрение позволяет прийти к пониманию не только специфической роли ТМД, но и принципов функционирования мембранных рецепторов в целом, эффектов патологических мутаций и выработке новых стратегий в терапии. Таким образом, несмотря на кажущуюся простоту системы “димер ТМ-спиралей”, чтобы выявить принципы, по которым она работает, требуется систематический (“холистический”) подход и в то же время серьезные исследования на каждом уровне. Более того, как было показано, ТМД – это потенциальный ключ к пониманию механизма работы рецепторов, поскольку они играют в нем центральную роль. Связывая внеклеточные и цитоплазматические домены, ТМД отвечают за локализацию белка в мембране и его взаимодействие с мембранным окружением. Другими словами, они представляют собой своего рода точку отсчета в понимании молекулярных аспектов клеточной сигнализации и передачи информации. Авторы выражают надежду на то, что разработанные методы, технологии, алгоритмы, а также накопленный опыт изучения разных типов МБ, находящихся в специфическом мембранном окружении, вносят ценный вклад в понимание общих принципов организации и работы белок-мембранных комплексов – одних из самых сложных молекулярных систем в биологии.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность Э.В. Бочарову за многолетнее сотрудничество и обсуждение затронутых в исследовании проблем.

#### ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект 23-14-00313).

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов исследования.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Engel A., Gaub H.E. // *Ann. Rev. Biochem.* 2008. V. 77. P. 127–148.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.77.062706.154450>
2. Deisenhofer J., Epp O., Miki K., Huber R., Michel H. // *Nature.* 1985. V. 318. P. 618–624.  
<https://doi.org/10.1038/318618a0>
3. Ernst O.P., Lodowski D.T., Elstner M., Hegemann P., Brown L.S., Kandori H. // *Chem. Rev.* 2014. V. 114. P. 126–163.  
<https://doi.org/10.1021/cr4003769>
4. Kandori H. // *Biophys. Rev.* 2020. V. 12. P. 355–361.  
<https://doi.org/10.1007/s12551-020-00645-0>
5. Nadezhdin K.D., Neuberger A., Trofimov Y.A., Krylov N.A., Sinica V., Kupko N., Vlachova V., Zakharian E., Efremov R.G., Sobolevsky A.I. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2021. V. 28. P. 564–572.  
<https://doi.org/10.1038/s41594-021-00615-4>
6. Cymer F., Schneider D. // *Cell Adh. Migr.* 2010. V. 4. P. 299–312.  
<https://doi.org/10.4161/cam.4.2.11191>
7. Bugge K., Lindorff-Larsen K., Kragelund B.B. // *FEBS J.* 2016. V. 283. P. 4424–4451.  
<https://doi.org/10.1111/febs.13793>
8. MacKenzie K.R., Prestegard J.H., Engelman D.M. // *Science.* 1997. V. 276. P. 131–133.  
<https://doi.org/10.1126/science.276.5309.131>
9. Henderson R., Unwin P.N.T. // *Nature.* 1975. V. 257. P. 28–32.  
<https://doi.org/10.1038/257028a0>
10. Consortium T.U. // *Nucleic Acids Res.* 2022. V. 51. P. D523–D531.  
<https://doi.org/10.1093/nar/gkac1052>
11. Kahn T.W., Engelman D.M. // *Biochemistry.* 1992. V. 31. P. 6144–6151.  
<https://doi.org/10.1021/bi00141a027>
12. White S.H., von Heijne G. // *Annu. Rev. Biophys.* 2008. V. 37. P. 23–42.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.biophys.37.032807.125904>
13. Polyansky A.A., Chugunov A.O., Volynsky P.E., Krylov N.A., Nolde D.E., Efremov R.G. // *Bioinformatics.* 2013. V. 30. P. 889–890.  
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt645>
14. Russ W.P., Engelman D.M. // *J. Mol. Biol.* 2000. V. 296. P. 911–919.  
<https://doi.org/10.1006/jmbi.1999.3489>
15. Kordyukova L.V., Serebryakova M.V., Polyansky A.A., Kropotkina E.A., Alexeevski A.V., Veit M., Efremov R.G., Filippova I.Y., Baratova L.A. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2011. V. 1808. P. 1843–1854.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2011.03.005>

16. Zhang L., Polyansky A., Buck M. // PLoS One. 2015. V. 10. P. e0121513. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121513>
17. Aliper E.T., Krylov N.A., Nolde D.E., Polyansky A.A., Efremov R.G. // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23. P. 9221. <https://doi.org/10.3390/ijms23169221>
18. Polyansky A.A., Efremov R.G. // Comput. Struct. Biotechnol. J. 2023. V. 21. P. 2837–2844. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2023.04.021>
19. Polyansky A.A., Bocharov E.V., Velghe A.I., Kuznetsov A.S., Bocharova O.V., Urban A.S., Arseniev A.S., Zagrovic B., Demoulin J.B., Efremov R.G. // Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj. 2019. V. 1863. P. 82–95. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2018.09.011>
20. Albrecht C., Kuznetsov A.S., Appert-Collin A., Dhaid-eh Z., Callewaert M., Bershatsky Y.V., Urban A.S., Bocharov E.V., Bagnard D., Baud S., Blaise S., Romier-Crouzet B., Efremov R.G., Dauchez M., Duca L., Gueroult M., Maurice P., Bennasroune A. // Front. Cell Dev. Biol. 2020. V. 8. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.611121>
21. Jumper J., Evans R., Pritzel A., Green T., Figurnov M., Ronneberger O., Tunyasuvunakool K., Bates R., Židek A., Potapenko A., Bridgland A., Meyer C., Kohl S.A.A., Ballard A.J., Cowie A., Romera-Paredes B., Nikolov S., Jain R., Adler J., Back T., Petersen S., Reiman D., Clancy E., Zielinski M., Steinegger M., Pacholska M., Berghammer T., Bodenstein S., Silver D., Vinyals O., Senior A.W., Kavukcuoglu K., Kohli P., Hassabis D. // Nature. 2021. V. 596. P. 583–589. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>
22. Sahoo A.R., Souza P.C.T., Meng Z., Buck M. // Structure. 2023. V. 31. P. 735–745.e2. <https://doi.org/10.1016/j.str.2023.03.014>
23. Muhle-Goll C., Hoffmann S., Afonin S., Grage S.L., Polyansky A.A., Windisch D., Zeitler M., Bürck J., Ulrich A.S. // J. Biol. Chem. 2012. V. 287. P. 26178–26186. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.325555>
24. Polyansky A.A., Volynsky P.E., Efremov R.G. // J. Am. Chem. Soc. 2012. V. 134. P. 14390–14400. <https://doi.org/10.1021/ja303483k>
25. Bocharov E.V., Bragin P.E., Pavlov K.V., Bocharova O.V., Mineev K.S., Polyansky A.A., Volynsky P.E., Efremov R.G., Arseniev A.S. // Biochemistry. 2017. V. 56. P. 1697–1705. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.6b01085>
26. Roepstorff K., Thomsen P., Sandvig K., van Deurs B. // J. Biol. Chem. 2002. V. 277. P. 18954–18960. <https://doi.org/10.1074/jbc.M201422200>
27. Sottocornola E., Misasi R., Mattei V., Ciarlo L., Gradini R., Garofalo T., Berra B., Colombo I., Sorice M. // FEBS J. 2006. V. 273. P. 1821–1830. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2006.05203.x>
28. Rohwedder A., Knipp S., Roberts L.D., Ladbury J.E. // Sci. Rep. 2021. V. 11. P. 6160. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85578-8>
29. Roy A., Patra S.K. // Stem Cell Rev. Rep. 2022. V. 19. P. 2–25. <https://doi.org/10.1007/s12015-022-10448-3>
30. Volynsky P.E., Polyansky A.A., Fakhrutdinova G.N., Bocharov E.V., Efremov R.G. // J. Am. Chem. Soc. 2013. V. 135. P. 8105–8108. <https://doi.org/10.1021/ja4011942>
31. Kuznetsov A.S., Polyansky A.A., Fleck M., Volynsky P.E., Efremov R.G. // J. Chem. Theory Comput. 2015. V. 11. P. 4415–4426. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00206>
32. Velghe A.I., Van Cauwenberghe S., Polyansky A.A., Chand D., Montano-Almendras C.P., Charni S., Hallberg B., Essaghir A., Demoulin J.B. // Oncogene. 2014. V. 33. P. 2568–2576. <https://doi.org/10.1038/onc.2013.218>
33. Russ W.P., Engelman D.M. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. V. 96. P. 863–868. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.3.863>
34. De Baets G., Van Doorn L., Rousseau F., Schymkowitz J. // PLoS Comput. Biol. 2015. V. 11. P. e1004374. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004374>
35. Suomivuori C.-M., Latorraca N.R., Wingler L.M., Eismann S., King M.C., Kleinhenz A.L.W., Skiba M.A., Staus D.P., Kruse A.C., Lefkowitz R.J., Dror R.O. // Science. 2020. V. 367. P. 881–887. <https://doi.org/10.1126/science.aaz0326>
36. Chen P.H., Unger V., He X. // J. Mol. Biol. 2015. V. 427. P. 3921–3934. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.10.003>
37. Arkhipov A., Shan Y., Das R., Endres N.F., Eastwood M.P., Wemmer D.E., Kuriyan J., Shaw D.E. // Cell. 2013. V. 152. P. 557–569. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.12.030>
38. Fleck M., Polyansky A.A., Zagrovic B. // J. Chem. Theory Comput. 2016. V. 12. P. 2055–2065. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b01217>
39. Westerfield J.M., Barrera F.N. // J. Biol. Chem. 2020. V. 295. P. 1792–1814. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV119.009457>
40. Mitchell C.J., Johnson T.S., Deber C.M. // Biophys. J. 2022. V. 121. P. 3253–3262. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2022.07.026>
41. Love J., Mancina F., Shapiro L., Punta M., Rost B., Girvin M., Wang D.-N., Zhou M., Hunt J.F., Szyperski T., Gouaux E., MacKinnon R., McDermott A., Honig B., Inouye M., Montelione G., Hendrickson W.A. // J. Struct. Funct. Genomics. 2010. V. 11. P. 191–199. <https://doi.org/10.1007/s10969-010-9094-7>

# Transmembrane Domains of Bitopic Proteins As a Key to Understand the Cellular Signaling

A. A. Polyansky\* and R. G. Efremov\*, \*\*, \*\*\*, #

# Phone: +7 (903) 743-16-56; e-mail: efremov@nmr.ru

\* *Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,  
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia*

\*\* *National Research University Higher School of Economics, ul. Myasnitskaya 20, Moscow 101000 Russia*

\*\*\* *Moscow Institute of Physics and Technology (State University),  
Institutsky per. 9/3, Dolgoprudny, 141701 Russia*

This work presents in a systematic manner key modeling results corroborated by experimental biophysical data and obtained by the authors during long-term research on bitopic (single-pass) membrane proteins (BMP), which are the crucial elements of cell signaling. The manuscript does not claim to be a comprehensive review on the topic, whereby the authors did not aim to describe accurately the current state of the art, given the numerous reliable publications. Rather, it is an essay illustrating the authors' understanding of the basic principles in organization of transmembrane protein domains (TMD) and their contribution to the cell functioning. Among the key topics highlighted in the present work are the fine-tuned processes of TMD oligomerization and direct contribution of the dynamic membrane environment to this process, the key role of TMD in the functioning of cell receptors and mutual relations between all components of protein-membrane complexes during the signal transduction in normal and pathological conditions.

*Keywords: membrane proteins, oligomerization, molecular-biophysical framework, molecular dynamics, "membrane response", protein-lipid interactions, allosteric communication in proteins*