

УДК 577.1:547.96  
© Коллектив авторов

## МЕТАБОТРОПНЫЕ ГЛУТАМАТНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ: ОЦЕНКА СТРУКТУРЫ ДОМЕНА, БОГАТОГО ЦИСТЕИНОВЫМИ ОСТАТКАМИ

Беленикин М.С.<sup>1</sup>, Палиулин В.А.<sup>1</sup>, Зефирова Н.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Химический факультет, 119992, Москва, Ленинские горы, тел.: 9394173, факс: 9390290, эл.почта: bm@org.chem.msu.ru

<sup>2</sup>Институт физиологически активных веществ РАН, Черноголовка; эл.почта: zefirova@org.chem.msu.ru

В данной работе проведена оценка пространственной укладки для домена, богатого цистеиновыми остатками (ДБЦО) в метаботропных глутаматных рецепторах (mGluRs), с использованием метода протягивания; смоделирована пространственная структура ДБЦО. Использование в расчетах аминокислотных последовательностей ДБЦО всех подтипов mGluRs рецепторов (число консервативных аминокислотных остатков - около 20%) позволяет снизить вероятность ошибок и определить варианты пространственных укладок, подходящие для всех подтипов. Проведенные статистические перестановочные тесты свидетельствуют о большой вероятности правильного определения вариантов укладки. В предложенном нами варианте укладки, состоящим из антипараллельных  $\beta$ -слоев, имеется возможность ее стабилизации за счет координации двух ионов металла (цинка), что согласуется с экспериментальными данными об отсутствии в ДБЦО цистеиновых связей. Сделан ряд выводов относительно функциональной роли ДБЦО.

**Ключевые слова:** метаботропный глутаматный рецептор, mGlu1, молекулярное моделирование, домена богатый цистеиновыми остатками.

**ВВЕДЕНИЕ.** Метаботропные глутаматные рецепторы (mGluRs) принадлежат к классу С сопряженных с G-белками рецепторов и играют важную роль в функционировании центральной нервной системы. Они включают в себя аминоконцевой домен (АКД); домен, богатый цистеиновыми остатками (ДБЦО); трансмембранный домен (ТМД) и С-концевой домен (рис. 1). В настоящее время многие аспекты функционирования таких рецепторных систем недостаточно ясны. Основное внимание исследователей сосредоточено на моделировании белковых структур, участвующих в связывании лигандов, с целью поиска их более селективных и эффективных аналогов. Поэтому в случае рецепторов mGluR исследуются главным образом АКД и ТМД, связывающие конкурентные и неконкурентные лиганды соответственно. Экспериментально определена лишь пространственная структура АКД mGluR1 и его комплексов с агонистом и антагонистом [1, 2]. Знание строения ДБЦО необходимо для изучения механизма передачи сигнала от АКД к ТМД, а также для построения полных структурной и функциональной моделей рецептора mGluR1. В настоящее время в литературе отсутствуют какие-либо данные о структуре ДБЦО. О функциях ДБЦО данных мало, однако известно, что усеченная форма рецептора (без ДБЦО) плохо экспрессируется и связывает лиганды [3].

Целью настоящей работы является оценка укладки для ДБЦО класса С сопряженных с G-белками рецепторов и построение пространственной модели ДБЦО mGluR1 рецептора, структурно и функционально согласующейся с аминоконцевым и трансмембранным доменами.

**МЕТОДИКА.** В настоящее время существует три основных подхода для расчета и предсказания пространственных структур белков: (1) *ab initio*, когда расчет структур белка производится на основе аминокислотных последовательностей (а.п.) с использованием

общих физико-химических закономерностей; (2) распознавание укладки с применением "методологии протягивания"; (3) использование методов сравнительного моделирования. Ввиду отсутствия высокомолекулярного белка для использования методов сравнительного моделирования, расчет варианта сворачивания ДБЦО в пространстве осуществлялся нами "методом протягивания" (МП) [4], позволяющим оценить вероятность того, что моделируемый белок имеет уже известный вариант расположения аминокислотных остатков (а.п.) в пространстве. В рамках МП производится "протягивание", а.п. моделируемого белка через укладку сходных фрагментов, и находится такое положение, при котором максимизируется функция обобщенного эмпирического потенциала. Мы применили методологию, согласно которой расчеты проводятся для ДБЦО всех восьми подтипов mGluR рецепторов (а не только для одного), а затем на основании анализа полученных данных выявляются потенциальные укладки-лидеры, что в нашем случае позволило существенно снизить вероятность ошибки при расчетной идентификации белковой укладки.

На первом этапе, с помощью МП, реализованного в программе Threader 3.3 [4], используя встроенную базу данных мы проводили поиск потенциальных белковых шаблонов для ДБЦО всех восьми подтипов mGluR рецепторов как с учетом вторичной структуры, предсказанной методом PsiPred 2.3 [5], так и без ее учета. После этого, с помощью экспертного блока техпр, созданного на основе обученной нейронной сети, во всех случаях выбирали двадцать лучших результатов, для которых проводили статистические перестановочные тесты с целью исключения случайных вариантов белковых упадок из числа предсказанных. В ходе таких тестов в случае каждого белка-шаблона для исследуемой а.п. с помощью перестановок а.о. производилась генерация 2000 а.п. Кроме этого, в случае ДБЦО mGluR1 подтипа рецептора были проведены статистические перестановочные тесты для всей базы данных (число сгенерированных а.п. составляло 50). Наилучшим вариантом является проведение статистических тестов для всех имеющихся в базе данных упадок, однако это требует больших затрат компьютерного времени (даже для небольшого по размерам ДБЦО, содержащего около 100 а.о.). На рисунке 2 приведено выравнивание а.п. ДБЦО всех подтипов mGluR рецепторов. Анализ результатов расчетов показал наличие ряда белковых упадок, подходящих в качестве шаблонных для всех подгрупп mGluR рецепторов (имеющих около 20% консервативных а.о., рис. 2), что является дополнительным аргументом, подтверждающим корректность вычислений. Отличительной особенностью данных упадок является наличие двух  $\beta$ -слоев (рис. 3), образующих компактную структуру, и отсутствие  $\alpha$ -спиральных фрагментов. И хотя полученные результаты свидетельствуют о большой вероятности правильного расчета укладки для ДБЦО, ввиду ряда ограничений

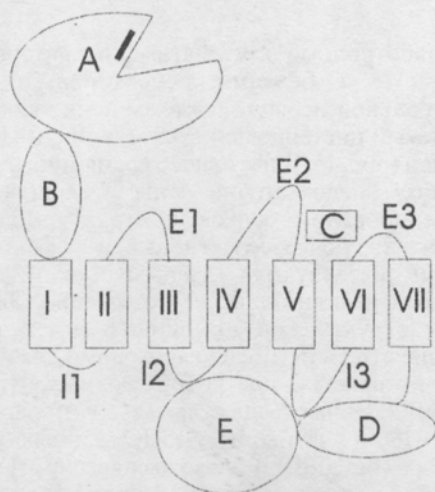


Рисунок 1.

Схема строения метаботропных глутаматных рецепторов. (А) - аминоконцевой домен; (В) - домен, богатый цистеиновыми остатками; (D) - С-концевой домен, сопряженный с G-белком (Е); I-VII - трансмембранный домен, связывающий неконкурентный антагонист (С) и включающий внеклеточные (Е1-Е3) и внутриклеточные (I1-I3) петельные области.

```

      * * * * *
      | | | | |
CRD1SS: cccc-cchhhhhhhccccc-ccceeecccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
CRD1:  HEGV-LNIDDYKI QMNKSG-VVRSVCSEPC LKGQIKVIRKGEVSCCWICTACKENEYVQDEFTCKACDLGW
CRD2SS: cccccchhhhhcccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
CRD2:  AEGLTLDTS LIPWASPSAGPLAASRCSEPC LQNEVKSVPFG-EVCCWLCIPQPYEYRLDEFTCADCGLGW
CRD3SS: cccccccccccccccccccc---eccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
CRD3:  AETLSLDVNSI HWSRNSVP---TSQCSDPCAPNEMKNMQPG-DVCCWICIPCEPYEYLADEFTCMDGSGQW
CRD4SS: cccccccccccccccccccc-ccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccchhcccccccc
CRD4:  TDHLHLRIERMHWPGSGQQLPRSLCSLPCQPGERKKT VKG-MPCWHCEPCTGYQYQVDRYTCCTCPYDMR
CRD5SS: cccc-eeeechcccccccc-cccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
CRD5:  DNGE-LKMDDDEVWSKSN-IIRSVCSSEPC EKGQIKVIRKGEVSCCWTCTPCKENEYVFDEYTCACQLGSW
CRD6SS: cccccccccccccccccccc-ccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccchhcccccccc
CRD6:  AETLRLDVEALQWSGDPHE-VPSSLCSLPCGPGERKKT VKG-VPCCWHCEACDGYRFQVDEFTCEACPGDMR
CRD7SS: cccccccccccccccccccc-cccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
CRD7:  TDELQLNIEDMQWKGVRRE-IPASVCTLPCKPGQRKKTQKG-TPCCWTCEPCDGYQYQFDEMTQHCYDQR
CRD8SS: cccccccccccccccccccc-ccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccchhcccccccc
CRD8:  TNQLHLIKVEDMQWAHREHT-HPASVCSLPCPKGERKKT VKG-VPCCWHCEPCGEYNYQVDELSCCLPLDQR
TotSS: CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
1f00:  ASITEIKADKTTAVANGQ-----DAITYTVKVMKGDKPVSNDQEVTFTTTLGKLSNSTEKTDTNGYAKVTLT
      * * * * *
      |
CRD1SS: cccccccccccccccccccccccccc
CRD1:  PNADLTGCEPIPVRYLEWSNI
CRD2SS: cccccccccccccccccccccccccc
CRD2:  PNASLTGCFELPQEYIRWGDA
CRD3SS: cccccccccccccccccccccccccc
CRD3:  PTADLTGCDLPEDYIRWEDA
CRD4SS: ccccccccccccccccccccccccch
CRD4:  PTENRTGCRPIPIIKLEWGSF
CRD5SS: cchhhcccccccccccccccccccc
CRD5:  PTDDLGTGCDLIPVQYLRWGD
CRD6SS: cccccccccccccccccccccccccc
CRD6:  PTPNHTGCRPTPVRLSWSSP
CRD7SS: cccccccccccccccccccccccccc
CRD7:  PNENRTGCDPIPIIKLEWHSP
CRD8SS: cccccccccccccccccccccccccc
CRD8:  PNMNRTGCDLPIPIIKLEWHSP
TotSS: CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
1f00:  STTPGKSLVSARVSDVAVDVK

```

Рисунок 2.

Выравнивание аминокислотных последовательностей (CRD1-CRD8) ДБЦО всех подтипов рецепторов (mGluR1-mGluR8). Показана предсказанная методом PsiPred 2.3 [5] вторичная структура. Все консервативные цистеиновые остатки выделены жирным шрифтом и обозначены вертикальными штрихами, а консервативные аминокислоты - звездочками. TotSS - консенсусная вторичная структура (С и с - петельные области во всех и в большинстве подтипов рецепторов, соответственно; Е и е - фрагмент β-слоя во всех и в большинстве подтипов рецепторов, соответственно). 1f00 - аминокислотная последовательность шаблонового белка (код 1f00 в белковой базе данных [6]).

(например, вариаций конформаций петельных областей), а также сложностей, связанных с недостатком точной информации о возможных положениях боковых цепей, взаимодействий между ними и др., используемый тип предсказаний может носить только вероятностный характер.

С использованием всех белков-шаблонов для всех восьми подтипов mGluR рецепторов проводилось построение предварительных моделей с целью визуальной оценки расположения а.о. Cys и His, поскольку для парных выравниваний а.п., построенных с помощью программы Threader 3.3, наблюдалось значительное варьирование результатов расчетов для разных подтипов mGluR рецепторов. Помимо данных о положениях элементов вторичной структуры, мы учитывали взаимное расположение С- и N-концов ДБЦО, положения петельных областей, а также оценивали различные варианты ориентации ДБЦО между АКД и ТМД (рис. 4) - в случае варианта I положение ДБЦО является наилучшим. Анализ результатов расчетов показал, что лучшие потенциальные белки-шаблоны имеют укладки двух типов (см. рис. 5, табл. 1). Взаимные положения цистеиновых а.к.о. варьируются в зависимости от белка-шаблона, так, например, в случае 1f00 [6] Cys остатки группируются по 4 а.к.о., которые располагаются таким образом, что имеют возможность взаимодействовать с ионами металлов (см. ниже).



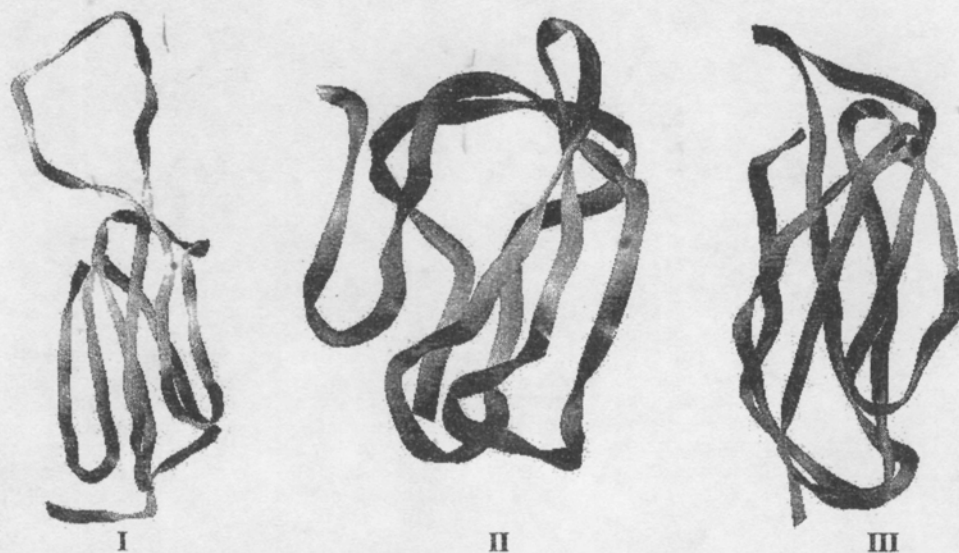


Рисунок 3.

Структуры белков-шаблонов (коды в Брукгейвенской базе данных): (I) lgme:D; (II) ldcz; (III) lfoo, имеющих сходные варианты сворачивания аминокислотной последовательности в пространстве.

Таблица 1. Изучение ряда структур известных белков в качестве шаблонов для моделирования домена, богатого цистеиновыми остатками.

Код в PDB* [6]	Классификация белковой укладки по SCOP** [7]	Число цистеиновых (Cys) а.о	Тип белковой укладки***
lgme	b.15.1.1	0	A
ldcz	b.84.1.1	0	A
lfoo	b.1.14.1	0	B
lcwv	b.1.14.1	0	B
ldfx	b.1.13.1	1	B
liam	b.1.1.3	2	B
lcvr	b.1.18.12	1	B
lccz	b.1.1.1	4	B
leut	b.1.18.2	1	B
lqfh	b.1.18.10	1	B

Примечания: \*Структура рассчитанного белка-шаблона может быть меньше полной структуры депонированной в белковой базе данных [6], поскольку в ряде случаев используются только лишь отдельные цепи; \*\* классификация белковой укладки для ряда белков-шаблонов в соответствии со структурной классификацией белков (SCOP) [7]; \*\*\* Буквами А и В обозначены типы укладок, приведенные на рисунке 3 справа и в центре соответственно.

На втором этапе (после определения белка-шаблона lfoo [6]) в соответствии с приведенным на рисунке 2 выравниванием а.п. с помощью программного комплекса Sybyl 6.7.2 [8] мы проводили построение пространственной структуры белка, оптимизацию геометрии модели методами скорейшего спуска и сопряженного градиента с использованием силового поля Tripos [8]. После этого проводили молекулярно-динамические расчеты по методологии моделируемого отжига, для улучшения качества построенной модели (корректировки ориентаций боковых цепей а.о.). При расчетах использовали отжиг по экспоненциальной функции. Первоначальная максимальная температура составляла 1000 К, уменьшенная при последующих запусках до 600 К. Нижняя граница температуры составляла 300 К, уменьшенная при последующих запусках до 200 К. Фиксации подвергались C $\alpha$  атомы (основной цепи) в местах образования  $\beta$ -слоев, а также для аминокислотных остатков с благоприятной локальной геометрией. Одним из критериев окончания процедуры отжига являлись значения 3D-1D профилей.



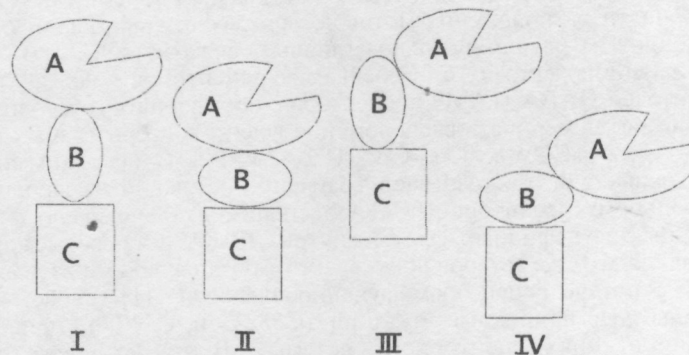


Рисунок 4.

Схематичное представление основных возможных вариантов расположения ДБЦО (В) в пространстве между АКД (А) и ТМД (С).

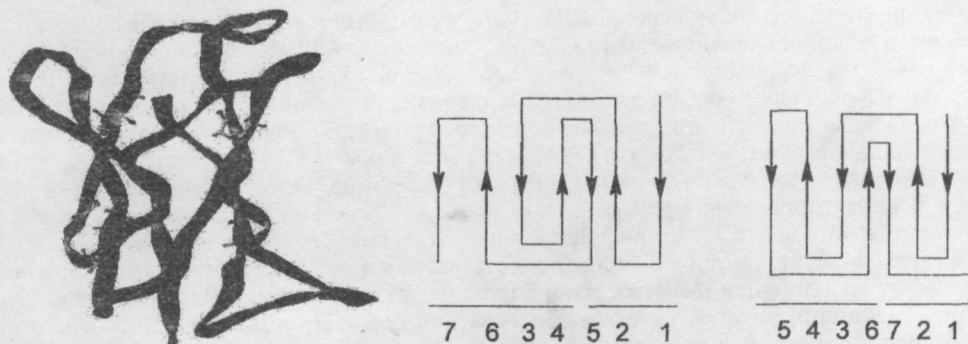


Рисунок 5.

Пространственная структура построенной модели ДБЦО (слева). Цистеиновые а.о., потенциально участвующие в координации ионов  $Zn^{2+}$ , выделены. Справа (обозначены буквой А в табл. 1) и в центре (В) показаны наилучшие рассчитанные для ДБЦО типы укладки  $\beta$ -слои, образующие  $\beta$ -листы, табл. 1.

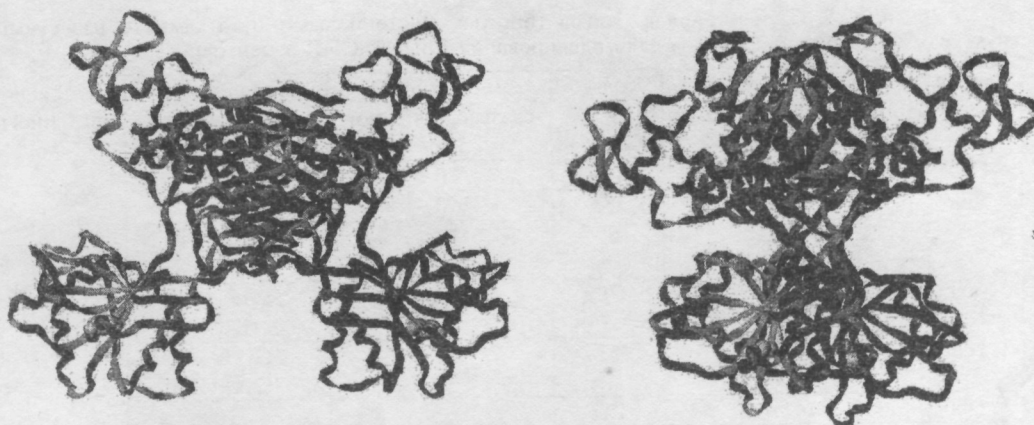


Рисунок 6.

Изменения взаимных положений мономеров в экспериментально определенной структуре димера открытых (слева) и димера открытой и закрытой форм (справа) mGluR1 рецептора. Аминокислотные остатки, образующие С-концы АКД, представлены изображены шариками.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** Для ДБЦО mGluR рецепторов не проявляются закономерности расположения мотивов, богатых цистеиновыми остатками, характерные для ДБЦО других (функционально отличных) белков (табл. 2). В целом, для ДБЦО всего класса С сопряженных с G-белками рецепторов (за исключением некоторых представителей GABA (ГАМК)-рецепторов, образующих гетеродимеры [9]) наблюдается следующая закономерность расположения девяти консервативных цистеиновых остатков: S-x<sub>1</sub>-C-x<sub>2</sub>-PC-x<sub>11-14</sub>-CCW-x<sub>1</sub>-C-x<sub>2</sub>-C-x<sub>11</sub>-C-x<sub>2</sub>-C-x<sub>5</sub>-P-x<sub>6</sub>-C (заглавными буквами обозначены консервативные а.о., а x<sub>i</sub> означает фрагмент, состоящий из любых i а.о.). Для кальций-чувствительного рецептора (hCaR) экспериментально было определено отсутствие образования дисульфидных связей внутри ДБЦО, а также между ДБЦО и АКД [10]. Исследования этих же авторов показали, что мутация любого из девяти Cys остатков на Ser приводит к потере рецептором функциональности [11] (в настоящее время для hCaR определены две природные мутации (C582Y и C549R), приводящие к патологиям функционирования рецепторной системы). В то же время замещение 20 из 53 нецистеиновых а.о. в hCaR на соответствующие из Fugu hCaR не привело к ухудшению функционирования рецептора, а мутации 40 из 53 нецистеиновых а.о. в ДБЦО hCaR на соответствующие из mGluR1, привело лишь к ослаблению рецепторной функции [12]. Согласно работе [10], функциональная роль цистеиновых остатков заключается в обеспечении правильной укладки ДБЦО. Поэтому в соответствии с вышеперечисленными экспериментальными результатами (а также данными для ДБЦО других рецепторов, см. ниже) наиболее вероятной нам представляется координация цистеиновыми остатками ионов металлов, например Zn<sup>2+</sup>, однако экспериментальные данные на этот счет для mGluR рецепторов пока отсутствуют (недавно появились данные о возможном аллостерическом ингибировании ионами Zn<sup>2+</sup> работы GABAA рецепторов [13]). Так, в структурах ДБЦО ряда белков из Брукхейвенской базы данных [6] (например, 1e53 [6], имеющего отличную от mGluR рецепторов сигнатуру C-x<sub>2</sub>-C-x<sub>11</sub>-C-x<sub>2</sub>-C-x<sub>4</sub>-C-x<sub>2</sub>-C) наблюдается тетраэдрическая координация ионов Zn<sup>2+</sup> аминокислотными остатками, обеспечиваемая либо только цистеиновыми, либо одновременно цистеиновыми и гистидиновыми остатками (совместная координация имеет место в пяти случаях из восьми, табл. 2). Выравнивание а.п. (рис. 2) демонстрирует отсутствие консервативных а.о. His в ДБЦО mGluR рецепторов, что позволяет сделать вывод о неучастии His в координировании ионов Zn<sup>2+</sup> в случае этих рецепторов. В построенной нами модели ДБЦО (рис. 5) цистеиновые остатки имеют возможность располагаться группами по четыре, экспонируя боковые цепи внутрь домена, стабилизируя при этом структуру ДБЦО за счет координации ионов металла (Zn<sup>2+</sup>). Несмотря на димеризацию АКД [1] и, по-видимому, димеризацию ТМД [14], образование дисульфидной связи между двумя ДБЦО маловероятно (наши структурные модели свидетельствуют об отсутствии такого взаимодействия).

Таблица 2. Изучение ряда белков (богатых цистеиновыми остатками) с известными структурами в качестве шаблонов для моделирования ДБЦО mGluR рецепторов.

Код в PDB [6]	Классификация белковой укладки по SCOP [7]	Кол-во а.к.о.	Число сайтов связывания ионов Zn <sup>2+</sup>	Состав сайтов связывания ионов Zn <sup>2+</sup>	Число цистеиновых а.о.
1by2	d.170.1.1	119	0	—	6
1dgg	b.42.2.2	135	0	—	6
1e53	g.49.1.2	59	2	2Cys+2His 4Cys	9
1exk	g.54.1.1	79	2	4Cys 4Cys	8
1far	g.49.1.1	52	2	3Cys+1His 3Cys+1His	6
1ijx	a.141.1.1	127	0	—	10
1kbe	g.49.1.1	49	2	3Cys+1His 3Cys+1His	7
1tbn	g.49.1.1	82	2	3Cys+1His 3Cys+1His	7

Примечания: 2Cys+2His - сайт связывания иона цинка образован двумя а.о. Cys и двумя а.о. His; 4Cys - сайт связывания иона цинка образован четырьмя а.к.о. Cys; 3Cys+1His - сайт связывания иона цинка образован тремя а.к.о. Cys и одним а.к.о. His;

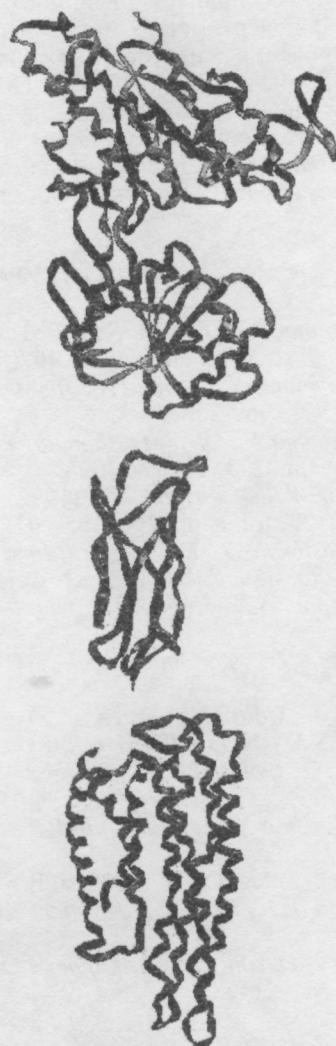


Рисунок 7.

Сравнение размеров АКД (верхняя часть рисунка, около 450 а.о.), ДБЦО (в центре, около 100 а.о) и ТМД (нижняя часть рисунка, около 260 а.о.).

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Таким образом, в ходе данной работы оценена пространственная укладка ДБЦО mGluR рецепторов, характеризующаяся двумя антипараллельными  $\beta$ -слоями (иммуноглобулин-подобный  $\beta$ -сэндвич) и построена пространственная модель этого домена (mGluR1 подтип).

Анализ экспериментальных и расчетных данных позволяет сделать следующие выводы относительно функциональной роли ДБЦО. 1) ДБЦО выполняет функцию "редуктора", уменьшающего смещения N-концов  $\alpha$ -спиралей ТМД при конформационных изменениях АКД. Как следует из данных рентгеноструктурного анализа (РСА), смещение одного из С-концов димера АКД при схлопывании одного из мономеров, должно составлять около 45 Å [1] (рис. 6), тогда как столь значительные перемещения  $\alpha$ -спиралей ТМД невозможны (ДБЦО имеет длину около 40 Å). Это свидетельствует о не совсем точной интерпретации экспериментальных данных в литературе, поскольку РСА проводили для димера АКД, не связанного с трансмембранной частью. И, по-видимому, расстояние между С-концами АКД в димере открытых форм в нативной форме меньше, чем в данных РСА, а в димере закрытой-закрытой и закрытой-открытой форм в нативных условиях - больше, чем в данных РСА. 2) ДБЦО выступает посредником при передаче сигнала от АКД к ТМД, в то же время механическое воздействие ДБЦО, по-видимому, оказывает определенное влияние на взаимные положения АКД в димере, тем самым воздействуя на АКД, что приводит к открытию закрытых лигандсвязанных и свободных



форм АКД. 3) ДБЦО выполняет функцию "амортизатора", препятствующего взаимодействию АКД с поверхностью мембраны и ТМД (что могло бы привести к нарушению функционирования рецептора). Для сравнения размеров на рис. 7 приведены пространственные структуры АКД [1], ДБЦО и ТМД [14]. 4) ДБЦО может участвовать в процессах тонкой регуляции (модуляции) функционирования рецептора за счет связывания ионов  $Zn^{2+}$ , что, однако, нуждается в экспериментальном подтверждении. Несмотря на наличие экспериментальных данных [10], возможность образования дисульфидных связей внутри ДБЦО все же полностью исключить нельзя.

#### ЛИТЕРАТУРА

- 1 Kunishima N., Shimada Y., Tsuji Y., Sato T., Yamamoto M., Kumasaka T., Nakanishi S., Jingami H., Morikawa K. (2000) *Nature*, **407**(6807), 971-977.
- 2 Tsuchiya D., Kunishima N., Kamiya N., Jingami H., Morikawa K. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 2660-2665.
- 3 Okamoto T., Sekiyama N., Otsu M., Shimada Y., Sato A., Nakanishi S., Jingami H. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 13089-13096.
- 4 Jones D.T., Taylor W.R., Thornton J.M. (1992) *Nature*, **358**(6381), 86-89.
- 5 Jones D.T. (1999) *J. Mol. Biol.*, **292**, 195-202.
- 6 Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. (2000) *Nucl. Acids. Res.*, **28**, 235-242.
- 7 Murzin A.G., Brenner S.E., Hubbard T., Chothia C. (1995) *J. Mol. Biol.*, **247**, 536-540.
- 8 Clark M., Cramer R.D., Van Opdenbosch N. (1989) *J. Comp. Chem.*, **10**, 982-1012.
- 9 White J.H., Wise A., Main M.J., Green A., Fraser N.J., Disney G.H., Barnes A.A., Emson P., Foord S.M., Marshall F.H. (1998) *Nature*, **396**(6712), 679-682.
- 10 Hu J., Reyes-Cruz G., Goldsmith P.K., Spiegel A.M. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 6901-6904.
- 11 Fan G.F., Ray K., Zhao X.M., Goldsmith P.K., Spiegel A.M. (1998) *FEBS Lett.*, **436**, 353-356.
- 12 Hu J., Hauache O., Spiegel A.M. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 16382-16389.
- 13 Hosie A.M., Dunne E.L., Harvey R.J., Smart T.G. (2003) *Nature Neuroscience*, **6**, 362-369.
- 14 Беленикин М.С., Палюлин В.А., Зефирова Н.С. (2004) *Биомедицинская химия*, **50**, приложение №1, 16-23.

#### METABOTROPIC GLUTAMATE RECEPTORS: FOLD ESTIMATION FOR CYSTEINE-RICH DOMAIN

M.S. Belenikin<sup>1</sup>, V.A. Palyulin<sup>1</sup>, N.S. Zefirov<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Moscow State University

Moscow State University, Lenin Hills, Moscow, 119992, Russia

tel: +7-095-939 41 73; fax: +7-095-939 02 90 e-mail:bm@org.chem.msu.su

<sup>2</sup> Institute of Physiologically Active Compounds, Russian Academy of Sciences, Chernogolovka, Moscow region

A fold estimation for cysteine-rich domain (CRD) of metabotropic glutamate (mGlu) receptor was made using threading methodology. For improving prediction results for all eight subtypes of mGlu were calculated. Employment of this approach resulted in legitimation of the protein folds satisfying for all eight mGlu receptor subtypes. Additional shuffling tests underline correctness of obtained results. The fold variant is immunoglobulin-like  $\beta$ -sandwich. Conclusions on the functional and structural role of CRD were made.

**Key words:** metabotropic glutamate receptors, mGlu1, molecular modeling, cysteine-rich domain.