

# ПОИСК ОПТИМАЛЬНОГО ЛИГАНДА БИОСПЕЦИФИЧЕСКОГО ГЕМОСОРБЕНТА ДЛЯ УДАЛЕНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КЛАССА G ИЗ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА НА ОСНОВЕ ЭПИТОПОВ ПРОТЕИНА A *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

А.В. Лапко, Е.С. Пустюльга, В.П. Голубович

*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси,  
Минск, [gormoshkina@gmail.com](mailto:gormoshkina@gmail.com)*

**Введение.** В современном процессе разработки лекарственных средств, в т.ч. изделий медицинского назначения, широко используется компьютерное моделирование [1]. В частности, если известна пространственная структура белка, модуляция работы которого вызывает требуемый терапевтический эффект, широко применяется компьютерное моделирование взаимодействия белка-мишени и лиганда – малой органической молекулы, потенциально лекарства. Моделирование позволяет проводить поиск лигандов, образующих наиболее прочный комплекс с заданным белком, то есть являющихся более эффективными лекарственными средствами. Так, в задаче виртуального скрининга требуется на основе расчетов отсортировать набор лигандов по прочности образования комплекса с заданным белком. Для успешного решения задачи виртуального скрининга необходимо эффективно решать задачу докинга – задачу поиска взаимного пространственного расположения лиганда и белка, обеспечивающего наиболее прочную связь между ними [2, 3].

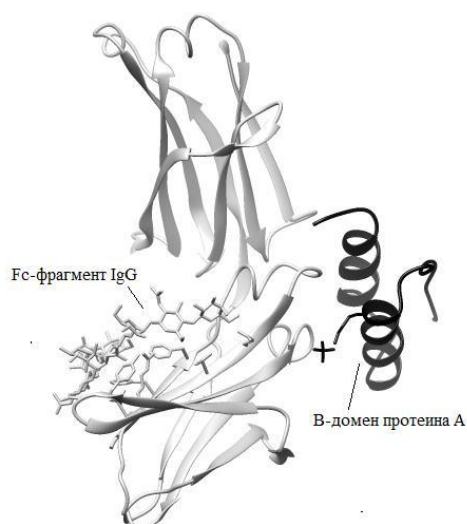
Целью данной работы являлось на основе вышеприведенных методов установить оптимальный лиганд, наилучшим образом связывающийся с иммуноглобулином класса G (IgG), для дальнейшей разработки иммуносорбента, способного удалять IgG из крови человека.

В качестве основы для разработки лиганда использовался протеин А – белок, выделенный с поверхности клеточной стенки золотистого стафилококка, который с высокой аффинностью связывает IgG человека. Рекомбинантный протеин А широко используется как в биохимических исследованиях, так и в экстракорпоральных терапевтических методах иммуноадсорбции для избирательного удаления из крови IgG. Связываясь с Fc-фрагментом иммуноглобулина G, протеин А оставляет при этом свободные антигенсвязывающие сайты, что подразумевает под собой ускользание от иммунного ответа и является уникальной особенностью данной бактерии [4].

Ранее, при помощи Программы оптимизации белков и счета конформаций, разработанной на базе лаборатории прикладной биохимии Института биоорганической химии НАН Беларуси, и UCSF Chimera нами были проанализированы структуры и определены аминокислотные остатки, входящие в контакт молекул лиганда и белка-мишени.

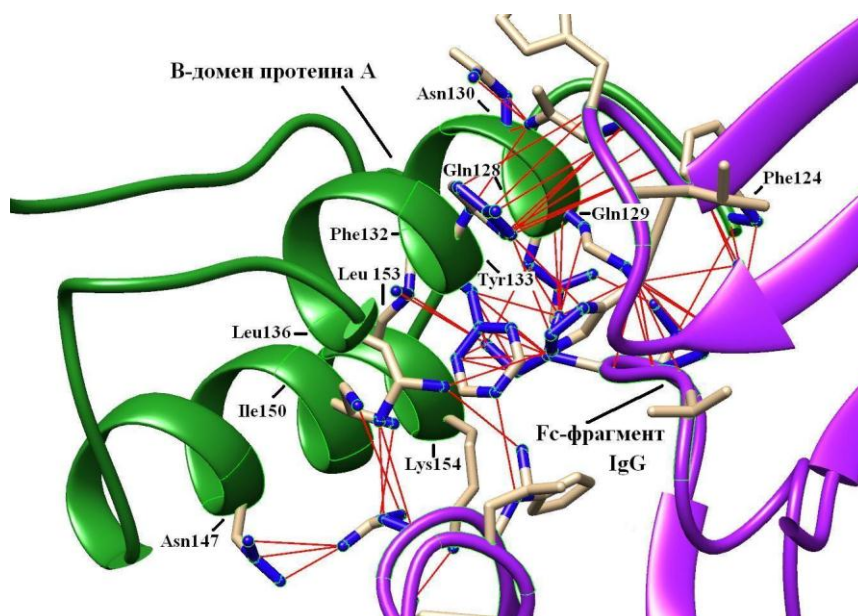
**Материалы и методы.** Для проведения молекулярного докинга был осуществлен поиск искомой биологической макромолекулы в базах данных пространственных структур (UniProtKB/Swiss-Prot database, The Protein Data Bank (PDB)), а также изучение структуры, конформации, сайтов взаимодействия с Fc-фрагментом иммуноглобулина G и, собственно, аминокислотного состава данного протеина посредством получения файла в pdb-формате для данного комплекса взаимодействия В-домена протеина А с Fc-фрагментом иммуноглобулина G (структуры 1FC1, 1FC2, 5U4Y) (рис. 1) [5-7].

Основной задачей данного исследования стало определение перечня аминокислотных остатков протеина А, участвующих в образовании контакта с Fc-фрагментом иммуноглобулина класса G. Нами было установлено, что при образовании комплекса возникает 59 взаимодействий между цепями лиганда и белка-мишени (рис. 2).



**Рисунок 1. – Структура комплекса В-домена протеина А с Fc-фрагментом иммуноглобулина класса G**

В В-доме протеина А участвуют в образовании контакта 11 аминокислотных остатков (Asn147, Phe132, Asn130, Phe124, Leu136, Leu153, Gln129, Tyr133, Lys154, Gln128, Ile150), которые связывают 12 аминокислотных остатков Fc-фрагмента IgG (Gln311, Ile253, His310, Asn434, Met252, Ser254, Leu314, His435, Leu251, His433, Leu432, Leu309).



**Рисунок 2. – Моделирование взаимодействия В-домена протеина А с Fc-фрагментом иммуноглобулина G посредством программы UCSF Chimera**

Далее из вышеперечисленных аминокислотных остатков протеина А были отобраны те, что образуют максимальное количество связей с атомами аминокислот Fc-фрагмента. Таким образом, по данным молекулярного докинга на UCSF Chimera [8-9] нами были отобраны четыре аминокислотных остатка фенилаланин-132, глутамин-129, тирозин-133 и фенилаланин-124, а также изолейцин-150, серин-154, аспарагин-147, но уже

с с меньшей энергией связывания. Эти данные полностью согласуются с результатами, полученными на разработанной в нашей лаборатории Программе оптимизации белков и счета конформаций.

Проанализировав полученные результаты, были определены возможные аминокислотные последовательности для синтеза олигопептидного аналога части активного центра связывания протеина А *Staphylococcus aureus* и Fc-фрагмента IgG. Далее дан краткий алгоритм отбора аминокислот для синтеза олигопептида, состоящего из 3-4 остатков.

1. Определение максимального процента перекрытия для каждого аминокислотного остатка цепи протеина А. Максимальный коэффициент перекрытия имеют аминокислоты Phe132, Phe124, Tyr133, Ile150, Ser154, Gln129 и Asn147.

2. Энергия взаимодействия для этих аминокислотных остатков также находится в пределах, удовлетворяющих условию образования достаточно прочного контакта между взаимодействующими цепями.

3. Подбор таких последовательностей аминокислот, чтобы расстояние между C $\alpha$  атомами, участвующих в образовании контакта, было минимальным и чтобы полученный тетрапептид был наименьшей длины.

Возможные варианты последовательности аминокислот для синтеза олигопептидного аналога части активного центра связывания протеина А *Staphylococcus aureus* и Fc фрагмента IgG:

Tyr133-Gln129-Phe132-Phe124	- 29Å
Phe132-Gln129-Phe124-Tyr133	- 26Å
Gln129-Phe132-Phe124-Tyr133	- 29Å
Gln129-Tyr133-Phe132-Phe124	- 29Å
Tyr133-Phe132-Gln129-Phe124	- 27Å
Phe132-Tyr133-Gln129-Phe124	- 36Å
Ile150-Gln129-Asn147-Ser154	- 35Å
Ile150-Asn147-Gln129-Ser154	- 36Å
Gln129-Asn147-Ile150-Ser154	- 26Å
Gln129-Ile150-Asn147-Ser154	- 32Å
Ser154-Ile150-Gln129-Asn147	- 25Å
Ser154-Gln129-Ile150-Asn147	- 32Å

Далее, с помощью метода молекулярного докинга было проведено изучение взаимодействия данных аминокислотных последовательностей с Fc-фрагментом иммуноглобулина G с целью отбора оптимального лиганда. Полученные данные с приведенными энергиями связывания отражены в таблице.

Таблица – Взаимодействия установленных аминокислотных последовательностей с Fc-фрагментом иммуноглобулина G

Пептидный лиганд	Энергия взаимодействия, ккал/моль
Gln129-Asn147-Ile150-Ser154	-3,83 ± 0,17 (-3,6; -4,1)
Gln129-Phe132-Phe124-Tyr133	-6,7 ± 0,1 (-6,6; -6,9)
Gln129-Tyr133-Phe132-Phe124	-3,52 ± 0,17 (-3,6; -3,9)
Ile150-Asn147-Gln129-Ser154	-3,45 ± 0,1 (-3,3; -3,6)
Ile150-Gln129-Asn147-Ser154	-3,4 ± 0,12 (-3,2; -3,6)
Phe132-Gln129-Phe124-Tyr133	-6,2 ± 0,2 (-6,0; -6,7)
Ser154-Gln129-Ile150-Asn147	-3,33 ± 0,29 (-3,0; -4,0)
Phe132-Tyr133-Gln129-Phe124	-4,38 ± 0,23 (-4,1; -4,8)
Ser154-Ile150-Gln129-Asn147	-3,37 ± 0,22 (-3,1; -3,8)
Tyr133-Gln129-Phe132-Phe124	-4,74 ± 0,25 (-4,5; -5,2)
Tyr133-Phe132-Gln129-Phe124	-4,61 ± 0,18 (-4,5; -5,0)

**Заключение и выводы.** Исходя из результатов, приведенных в вышеупомянутой таблице, можно предположить аминокислотные последовательности, которые наиболее активно взаимодействуют иммуноглобулином. Таким образом, по данным молекулярного докинга на UCSF Chimera, нами были отобраны два аминокислотных лиганда Gln129-Phe132-Phe124-Tyr133 и Phe132-Gln129-Phe124-Tyr133, которые проявляют наилучшие показатели взаимодействия и Fc-фрагментом IgG, а также пептид Gln129-Asn147-Ile150-Ser154, который будет использован в качестве контроля правильности отбора. В дальнейшем данные последовательности будут синтезированы с помощью методов классического химического синтеза, и будет исследована их функциональная активность методом иммуоферментного анализа. Полученные результаты могут послужить отправной точкой для эффективной стратегии поиска новых средств для медицины, в частности, они могут быть использованы для дальнейшей разработки биоспецифического сорбента для избирательного удаления иммуноглобулинов класса G из крови человека. На данный момент можно утверждать, что метод молекулярного докинга адекватен поставленной задаче и может служить хорошей моделью для изучения взаимодействия не только протеина А с иммуноглобулинами, но и разработанных пептидных лигандов.

#### **Список использованных источников**

1. Молекулярное моделирование: теория и практика / Х. Д. Хельтье [и др.] // Бином. Лаборатория знаний. – Москва. – 2009.
2. Молекулярный докинг: роль невалентных взаимодействий в образовании комплексов белков с нуклеотидами и пептидами / Т. В. Пырклов [и др.] // Биоорганическая химия. – 2010. – Т. 36, №4. – С. 482-492.
3. Предсказание структуры комплексов белок-лиганд: от компьютерной модели к биологической функции / Ю. А. Косинский [и др.] // Рос. хим. ж. – 2006. – Т. L., №2. – С. 36-44.
4. [Effect of protein A on staphylococcal opsonization](#) / P. K. Peterson [et al.] // Infection and Immunity. – 1977. – Vol. 15, № 3 – P. 760–764.
5. RCSB [Electronic resource] : Protein Data Bank. – Mode of access: <https://www.rcsb.org/structure/1FC2>. – Date of access 11.02.2019.
6. RCSB [Electronic resource] : Protein Data Bank. – Mode of access: <https://www.rcsb.org/structure/1fc1>. – Date of access 11.02.2019.
7. RCSB [Electronic resource] : Protein Data Bank. – Mode of access: <https://www.rcsb.org/structure/5U4Y>. – Date of access 11.02.2019.
8. Pettersen, E. F. UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis / E. F. Pettersen, T. D. Goddard, C.C. Huang [et al.] // J. Comput. Chem. – 2004. – Vol. 25 № 13. – P. 1605-1612.
9. UCSF Chimera X: Meeting modern challenges in visualization and analysis / T. D. Goddard [et al.] // [Protein Sci.](#) – 2018. – №1. – P. 14-25.