

МОЛЕКУЛЯРНОЕ КОНСТРУИРОВАНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ ДЛЯ СВЯЗЫВАНИЯ ИНТЕРЛЕЙКИНА 6

Белорусский государственный медицинский университет, научно-исследовательская часть, научная группа гемо- и лимфосорбции, г.Минск

Ключевые слова: интерлейкин 6, молекулярное моделирование, докинг, пептиды.

Резюме: В работе представлены результаты по молекулярному моделированию пептидов, способных эффективно взаимодействовать с ИЛ-6. С помощью молекулярного докинга были выбраны три пептида, реагирующие с минимальной энергией связывания. Данные пептиды могут быть в дальнейшем проанализированы *in vitro* на способность связывать ИЛ-6 из плазмы крови человека.

Resume: Abstract: In this work we present The results of the molecular modeling of peptides that can effectively interact with the IL-6. Using molecular docking three peptides were selected which react with minimum binding energy. These peptides will be analyzing *in vitro* for the ability to bind IL-6 from human blood plasma.

Актуальность. Интерлейкин 6 (ИЛ-6, IL-6) характеризуется широким спектром действия как на клетки иммунной системы, так и на клетки организма в целом, оказывая гормоноподобный эффект и поддерживая гомеостатические процессы. В зависимости от микроокружения данный цитокин может проявлять и про-, и противовоспалительные свойства. В настоящее время IL-6 рассматривается в качестве перспективной мишени для разработки противовоспалительной терапии при многих патологических состояниях (сепсис, аутоиммунная патология, аллергические заболевания) [1].

ИЛ-6 продуцируется различными типами клеток, таких как Т-клетки, В-клетки, моноциты, фибробласты, кератиноциты, эндотелиальные клетки, мезангиальные клетки, адипоциты и некоторые опухолевые клетки. Рецептор ИЛ-6 (ИЛ-6R, IL-6R) в основном экспрессируется на Т-клетках, моноцитах, активированных В-клетках и нейтрофилах.

Когда в 1986 году IL-6 был впервые идентифицирован, его основной характеристикой являлась способность индуцировать активацию и пролиферацию Т-клеток, а также участие в дифференцировке В-клеток в плазматические клетки. Сейчас ИЛ-6 рассматривается как плеiotропный цитокин с гормоноподобной активностью, который участвует в патогенезе сосудистых заболеваний, нарушениях липидного обмена, резистентности к инсулину посредством влияния на регуляцию нейроэндокринной и нейропсихологической систем.

Нормальные физиологические концентрации IL-6 в сыворотке крови человека являются относительно низкими (1-5 пг/мл), однако они быстро увеличиваются в условиях патологического процесса и могут достигать величин в мг/мл. Во многих случаях ИЛ-6 является более чувствительным и ранним прогностическим маркером развития воспаления, чем С-реактивный белок.

Участие ИЛ-6 доказано при таких заболеваниях как ревматоидный артрит, Болезнь Каслмана и мезангиальный пролиферативный гломерулонефрит. Кроме того, ИЛ-6 является фактором роста некоторых опухолей, таких как множественная миелома и карцинома почки. ИЛ-6 участвует в развитии кахексии, предположительно через стимуляцию синтеза белков острой фазы клетками печени.

На сегодняшний день в мировой медицинской практике разработан и успешно применяется препарат – Тоцилизумаб, представляющий собой рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело к человеческому рецептору ИЛ-6 [2]. Однако применение препаратов на основе моноклональных антител связано с развитием целого ряда побочных эффектов: реакции гиперчувствительности замедленного типа, инфекционные осложнения (туберкулез, вирусные гепатиты), лимфопролиферативные заболевания, лейкопения, тромбоцитопения и нейтропения [3]. Кроме того, одним из важных недостатков лечения с применением моноклональных антител является стоимость. Таким образом, поиск новых способов регулирования концентрации провоспалительных цитокинов в плазме крови с использованием синтетических пептидных лигандов является актуальной и перспективной задачей современной медицинской науки. Во-первых, олигопептид является менее чувствительным антигеном, чем химерные моноклональные антитела, во-вторых – он более дешевый.

Целью работы являлось молекулярное моделирование пептидов для связывания ИЛ-6. Для достижения были решены следующие **задачи**: изучены трехмерные модели молекулярных структур ИЛ6 в комплексе с рецептором к ИЛ-6 и gp 130, спрогнозированы структуры перспективных низкомолекулярных олигопептидов, проведена оценка свободной энергии связывания для отбора олигопептидов, способных максимально эффективно взаимодействовать с ИЛ-6.

Материалы и методы. Построение пептидной последовательности в PDB формате проводили в программе PyMol. Визуализация комплекса лиганд-рецептор – в программе Chimera. Молекулярный докинг проводили в программе Chimera с помощью программного обеспечения AutodockVina. AutoDock выбран в качестве программы для моделирования, поскольку является наиболее часто цитируемой в литературе (примерно в 27% литературы по докингу), кроме этого AutoDock является бесплатной программой для образовательных учреждений. Для решения задач докинга использовали модели белковых молекул, находящиеся в базе данных NCBI. Модели представлены в виде pdb-файлов (ProteinDataBank) и содержат информацию о трехмерной структуре молекулы, полученную в результате различных методов исследования (X-raydiffraction, NMR, гомологичное моделирование) [4]. Для изучения и анализа использовали следующие структуры из ProteinDataBank: 1I1R (комплекс цитокина с цитокинсвязывающей областью gp130) и 1P9M (комплекс ИЛ6/рецептор ИЛ6/gp130). Статистическую обработку и построение графиков – GraphPadPrism6.

Результаты и обсуждение. Методом визуального анализа выделяли область взаимодействия цитокина ИЛ6 с растворимым рецептором и gp130. Область взаимодействия ИЛ6 с gp130 предполагает три точки соприкосновения. Для более подробного анализа были выделены следующие полипептиды:

- X-Ile-Lys-X-Y-Ile- (1),
- X-Thr-Val-Y-Phe-Z- (2),
- Glu-X-Ala-Thr-Y-Lys-Phe-Ala-Asp- (3).

Далее измеряли расстояние между атомами аминокислот в выделенных последовательностях на gp130 и атомами аминокислот ИЛ6. Дальнейшее конструирование пептидов осуществляли на базе аминокислотных остатков gp130 наиболее близко расположенных к ИЛ6. Оптимальное расстояние находилось в диапазоне от 2 до 4Å.

Для молекулярного докинга были сконструированы 19 пептидов. Проведен анализ и вычислены энергии связывания сконструированных пептидов с ИЛ6 методом жесткого докинга с помощью AutodockVina. Полученные данные приведены в Таблице 1.

Таблица 1. Значения свободной энергии связывания различных пептидов с ИЛ-6

№ п/п	Пептид	Свободная энергия связывания
		Медиана (мин.;макс.)
1	-X-Phe	-5,500 (4,900;6,100)
2	-Y-His	-4,900 (4,800;5,600)
3	-Z-Ala	-5,700 (5,500;6,500)
4	-Lys-X-Ala	-5,650 (5,300;6,100)
5	-Ala-Y-His	-5,300 (4,900;6,000)
6	-Glu-Z-Ala	-5,900 (5,700;6,600)
7	-X-Ala-Thr-Y	-6,350 (5,900;7,000)
8	-Y	-3,000 (2,800;3,200)
9	-X-Ise	-5,150 (4,600;5,500)
10	-Ser-Y	-4,600 (4,300;5,200)
11	-Z-Ile	-4,800 (4,500;5,300)
12	-Ser-X-Ile	-5,000 (4,500;5,400)
13	-Y-Ile-Lys	-5,000 (4,800;5,800)
14	-Phe-Z	-5,900 (5,000;6,200)
15	-X-Tyr	-5,850 (5,500;6,600)
16	Val-Y-Phe-Z	-6,050 (5,600;6,700)
17	-X-Thr-Z-Y-Phe	-5,900 (5,500;6,400)
18	-X-Phe-Val	-6,600 (6,300;6,900)
19	-Ser-Z-Val	-5,150 (4,900;5,500)

Выводы. В результате молекулярного моделирования и математической оценки свободной энергии связывания из 19 пептидов были выбраны наиболее перспективные для дальнейшего синтеза и оценки их специфической ак-

тивности по связыванию ИЛ-6 *in vitro*. Наиболее эффективное связывание показали пептиды №7, 16, 18.

Литература

1. Hunter C.A., Jones S.A. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease / *Nature immunology*, 2015, V.16, N5, p.448-481
2. Mihara M., Hashizume M., Yoshida H. et al. IL6/IL6 receptor system and its role in physiological and pathological conditions / *Clinical science*, 2012, N122, p.143-159
3. Palladino M.A., Bahjat F.R., Theodorakis E.A. Anti-TNF- α therapies: the next generation / *Nature reviews*, 2003, V2, p.736-753
4. Sottriffer C.A., Flader W., Winger R.H. et al. Automated docking of ligands to antibodies: method and applications / *Methods*, 2000, V.20, p.280-291

Репозиторий БГМУ