белков. Это свидетельствует в пользу предположения, что сравниваемые лизосомальные ферменты выполняют однотипные функции у человека и модельных организмов.

В.В. Побойнев, А.Р. Козел, В.А. Козел

О ВЛИЯНИИ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН M21R И K48R НА СРОДСТВО ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА ЧЕЛОВЕКА К ЕГО РЕЦЕПТОРУ

Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Актуальность. Одним из наиболее тяжёлых осложнений сахарного диабета (СД) и основной причиной ампутаций является синдром диабетической стопы (СДС). СДС поражает около 8–10 % пациентов с СД. За последние 20 лет отмечается рост случаев СД в 2,8 раза, при этом первичная заболеваемость с 1995 по 2017 год выросла в 4,4 раза. В Республике Беларусь на 1 января 2021 г. на диспансерном учёте находилось 356945 пациентов с СД. Для лечения трофических язв у пациентов с СД активно применяется человеческий рекомбинантный эпидермальный фактор роста (ЭФРчр) Эберпрот-П, созданный с помощью методов генной инженерии на Кубе. ЭФРчр продуцируется штаммом дрожжей Saccharomyces cerevisiae, в геном которого введён ген ЭФРчр, и представляет собой высокоочищенный пептид, состоящий из 53 аминокислотных остатков. По механизму действия ЭФРчр идентичен эндогенному эпидермальному фактору роста, вырабатываемому в организме человека. Эберпрот-П применяется в составе комплексной терапии СДС с глубокими незаживающими в течение 4 недель и более нейропатическими или нейроишемическими ранами площадью более 1 см^2, достигающими сухожилия, связки, сустава или кости, стимулируя пролиферацию фибробластов, кератиноцитов, эндотелиальных и других клеток, участвующих в ранозаживлении.

Цель: провести отбор аминокислотных замен, повышающих сродство эпидермального фактора роста человека к его рецептору.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования является эпидермальный фактор роста человека (ЭФРЧ), аминокислотная последовательность которого полученная из PDB (PDB ID: 1IVO C). Амилоидогенные фрагменты определяли с помощью программы FoldAmyloid. В качестве исходных параметров была установлена температура 37°C и pH = 7,4. Изменение аффинности мутантного ЭФРЧ к его рецептору оценивали также на основании ΔΔG ($\Delta\Delta G = \Delta G_{исх} - \Delta G_{мут}$) с помощью программы mCsM-PPI2. Влияние аминокислотных замен на вероятность перехода во внутренне неупорядоченное состояние (IDPR) определяли при помощи сервера PentUnFOLD [Poboinev V.V. et al., 2022]. Докинг нативного ЭФРЧ и ЭФРЧ с аминокислотными заменами проводили при помощи программы HEX 8.0.0.

Результаты. В ЭФРЧ обнаружено два амилоидогенных фрагмента: Cys20-Glu24 и Cys42-Leu52. Нами проведены все возможные аминокислотные замены в пределах данных фрагментов *in silico*, за исключением Cys20 и Cys42, формирующих внутримолекулярные дисульфидные связи и поддерживающие третичную структуру ЭФРЧ. Всего нами были проанализированы 437 возможных аминокислотных замен. Аминокислотная замена M21R повышает способность ЭФРЧ к структурному переходу в IDPR, увеличивая при этом сродство к рецептору (ΔΔG=0,616 ккал/моль) благодаря формированию трёх новых водородных связей между Gln43, Lys28 белка и Gln384, Glu90 рецептора соответственно. Аминокислотная замена K48R повышает способность ЭФРЧ к структурным переходам за счёт исчезновения одной водородной связи внутри самого белка, значительно увеличивая при этом его аффинность к рецептору (ΔΔG=1,528 ккал/моль) за счёт появления новых водородных связей в комплексе лиганд-рецептор между Arg48 ЭФРЧ и Gln408, His409, Gly410 и Gln411 рецептора. Также данная замена приводит к появлению катион-π взаимодействия между Arg48 ЭФРЧ и Phe412 рецептора. ΔΔG после аминокислотной замены K48R было максимальным среди всех изученных замен. ЭФРЧ с аминокислотными заменами M21R и K48R находится в том же

сайте связывания, что и нативный пептид, а вышеприведенные аминокислотные замены не повышают амилоидогенный потенциал ЭФРЧ.

Заключение. Установлено, что для повышения сродства ЭФРЧ к его рецептору необходимо ввести аминокислотную замену M21R и/или K48R.