

В.А. Козел

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН M21K, M21R
И K48R НА СТРУКТУРУ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА
ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ**

Научный руководитель: канд. биол. наук В.В. Побойнев

Кафедра общей химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

V.A. Kozel

**DETERMINATION OF THE INFLUENCE OF THE AMINO ACID
SUBSTITUTIONS M21K, M21R AND K48R ON THE STRUCTURE
OF HUMAN EPIDERMAL GROWTH FACTOR
BY THE METHOD OF MOLECULAR DYNAMICS**

Tutor: PhD V.V. Poboinev

Department of General Chemistry

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. В данной статье проанализировано влияние комбинаций аминокислотных замен K48R/M21R и K48R/M21K на внутреннюю нестабильность эпидермального фактора роста человека с помощью метода молекулярной динамики. На основе данных, полученных в ходе проведения *in silico* экспериментов, было установлено, что наиболее перспективной оказалась комбинация аминокислотных замен K48R/M21R.

Ключевые слова: аминокислотные замены; эпидермальный фактор роста человека; синдром диабетической стопы; myPresto; GROMACS.

Resume. In this article the effect combinations of amino acid substitutions K48R/M21R and K48R/M21K on the instability of human epidermal growth factor was analyzed using method of molecular dynamics. Based on the data obtained during *in silico* experiments it was found that the combination of amino acid substitutions K48R/M21R seems to be the most promising.

Keywords: amino acid substitutions; human epidermal growth factor; diabetic foot syndrome; myPresto; GROMACS.

Актуальность. Сахарный диабет (СД), особенно 2-го типа, остается серьёзной проблемой для системы здравоохранения Республики Беларусь. СД создает значительное социально-экономическое бремя из-за дорогостоящего лечения и осложнений, включая сердечно-сосудистые патологии, почечную недостаточность и ретинопатию. Одно из тяжелых осложнений СД – синдром диабетической стопы, поражающий нервы, кости, суставы и сосуды стоп. Он приводит к язвам, некрозу и угрожает жизни пациента. В Беларуси этот синдром встречается у 7% пациентов с диабетом [1]. Единственный применяемый препарат для его лечения на сегодняшний день – Heberprot-P (рекомбинантный эпидермальный фактор роста человека (ЭФРЧ) [2]. Разработка нового препарата, на основе модифицированного ЭФРЧ с повышенным сродством к рецептору остается актуальной задачей [3].

Цель: определить влияние комбинаций аминокислотных замен K48R/M21R и K48R/M21K на внутреннюю нестабильность ЭФРЧ с помощью метода молекулярной динамики.

Задачи:

1. Провести моделирование трёхмерных структур эпидермального фактора роста человека с аминокислотными заменами K48R/M21R и K48R/M21K.
2. Определить влияние аминокислотных замен K48R/M21R и K48R/M21K на внутреннюю нестабильность ЭФРЧ методом молекулярной динамики в условиях приближенных к физиологическим.

Материалы и методы. В данной работе использовались 3D структуры ЭФРЧ, полученные методом молекулярного моделирования при помощи программы SWISS MODEL на основе шаблона третичной структуры из PDB [4], полученной при помощи рентгеноструктурного анализа (PDB ID: 1IVO, цепь С и D). Один из способов оценки степени конформационной изменчивости белка – это молекулярная динамика, которую проводили при помощи программы myPresto [5], содержащей алгоритм GROMACS [6]. Интегральным показателем, который демонстрирует насколько термодинамически оптимальная конформация белка при заданных условиях (температура равна 310K) отличается от начальной, является среднеквадратическое отклонение позиций всех атомов после стабилизации траектории.

Результаты и их обсуждение. В ходе молекулярного дизайна нового препарата для терапии синдрома диабетической стопы из 437 возможных вариантов аминокислотных замен в структуре ЭФРЧ были отобраны три наиболее перспективные: M21R, M21K и K48R. По итогам предыдущих исследований было принято решение использовать комбинацию аминокислотных замен: вводили одну аминокислотную замену с С-конца, а другую с N-конца ЭФРЧ. Из выбранных аминокислотных замен сформированы две комбинации: K48R/M21R и K48R/M21K. Для оценки их влияния на стабильность белка было проведено 10-наносекундное моделирование с анализом среднеквадратичного отклонения (RMSD) C_α-атомов основной цепи белка. Результаты, полученные с помощью программы myPresto, показали, что комбинация аминокислотных замен M21R и K48R вызывает дестабилизацию структуры ЭФРЧ, что проявляется дестабилизацией вторичной структуры ЭФРЧ на протяжении всего моделирования, чего не происходит с внесением аминокислотной комбинации M21K и K48R и одиночных аминокислотных замен (рисунок 1).

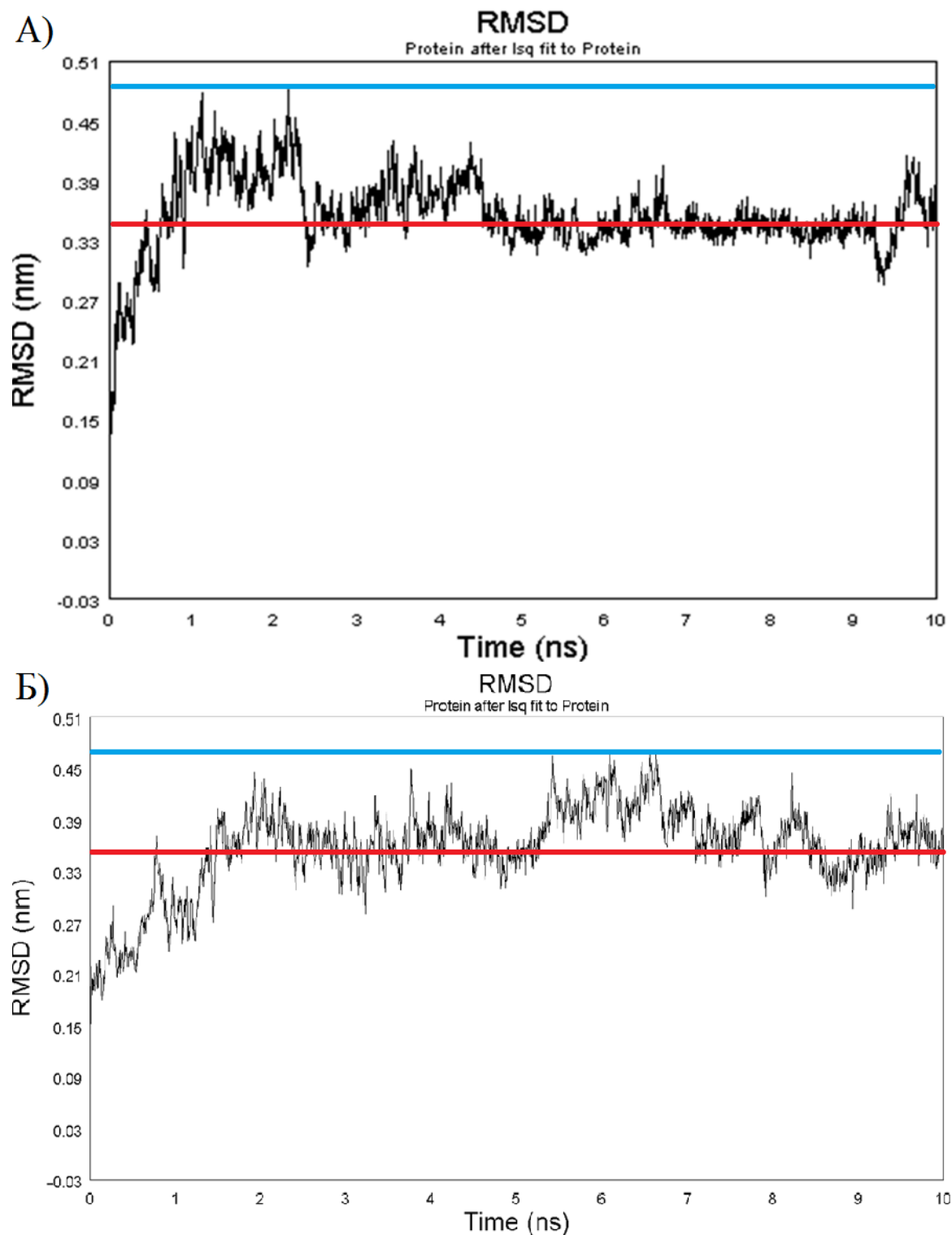


Рис. 1 – Среднеквадратичное отклонение ЭФРЧ (нативная структура) (А), среднеквадратичное отклонение ЭФРЧ с аминокислотными заменами M21R/K48R (Б).

Интересные результаты продемонстрировала и комбинация аминокислотных замен M21K и K48R. Она показала максимальное пиковое значение RMSD (0,51 нм), на 8 нс, однако далее структура ЭФРЧ стабилизируется (рисунок 2).

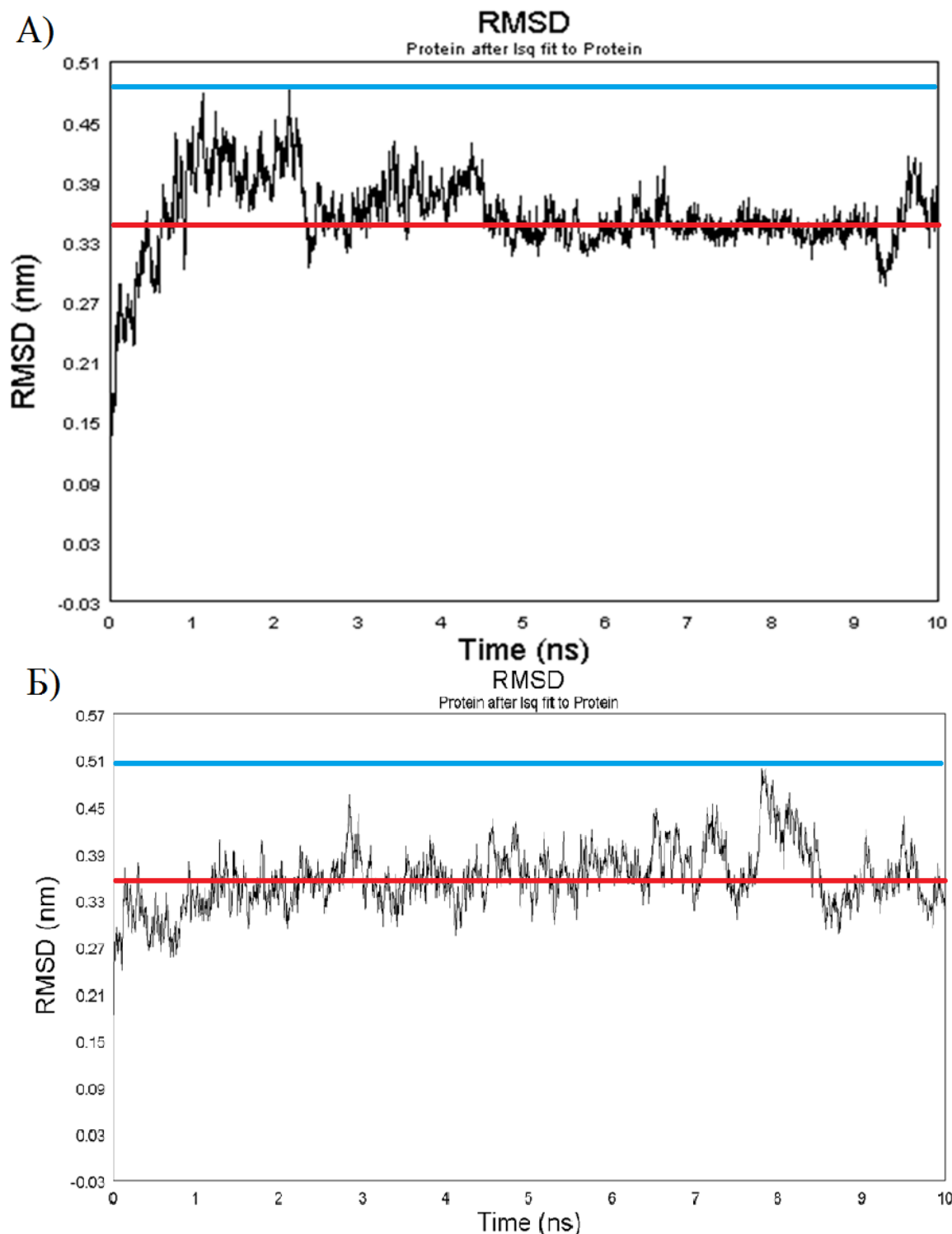


Рис. 2 – Среднеквадратичное отклонение ЭФРЧ (нативная структура) (А), среднеквадратичное отклонение ЭФРЧ с аминокислотными заменами M21K/K48R (Б).

Выводы. Согласно данным, полученным методом молекулярной динамики при температуре 310К, внесение двух аминокислотных замен M21R и K48R приводит к дестабилизации структуры ЭФРЧ (увеличивает вероятность структурного перехода во внутренне неупорядоченное состояние), что по нашему мнению, должно привести к увеличению сродства ЭФРЧ к его рецептору.

Литература

1. Минский городской клинический наркологический центр [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://gknd.by/>. – Дата доступа: 06.06.2025.
2. Berlanga, J. Heberprot-P: A Novel Product for Treating Advanced Diabetic Foot Ulcer / J. Berlanga [et al.] // MEDICC Review. – 2013. – Vol. 15. – P. 11–15.
3. Козел, В. А. Оценка влияния аминокислотных замен M21R, M21K, K48R на характер внутри- и межмолекулярных взаимодействий эпидермального фактора роста человека / В. А. Козел // Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2023 : сб. материалов докладов LXXVII Междунар. науч.-практ. конф. студентов и молодых учёных / под ред. С. П. Рубникова, В. А. Филонюка. – Минск : БГМУ, 2023. – С. 1001–1005.
4. Berman, H. M. The Protein Data Bank / H. M. Berman [et al.] // Nucleic Acids Research. – 2000. – Vol. 28. – P. 235–242.
5. Mashimo, T. Molecular dynamics simulations accelerated by GPU for biological macromolecules with a non-Ewald scheme for electrostatic interactions / T. Mashimo, I. Fukuda, H. Nakamura [et al.] // Journal of Chemical Theory and Computation. – 2013. – Vol. 9, № 12. – P. 5599–5609.
6. Van Der Spoel, D. GROMACS: fast, flexible, and free / D. Van Der Spoel [et al.] // Journal of Computational Chemistry. – 2005. – Vol. 26, № 16. – P. 1701–1718.