

БИОИНФОРМАТИЧЕСКОЕ ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ИММУНОГЕННОСТИ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ БЕЛКОВ ДЛЯ АКТИВНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ

И. С. Трусов

ivan.trusau@yandex.by;

Научный руководитель – В. В. Гринев, кандидат биологических наук, доцент

Одним из перспективных методов иммунотерапии рака является вакцинация с использованием дендритных клеток. Проблемой метода является правильный подбор антигенов, способных связываться с белками МНС (Major Histocompatibility Complex). В ходе нашей работы проводилось сравнение программ, способных предсказывать аффинность связывания пептидов генно-инженерных белков, предназначенных для вакцинации, с белками МНС.

Ключевые слова: Python; генно-инженерные белки; прогнозирование иммуногенности; дендритные клетки; иммунотерапия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ходе работы были отобраны программы для тестирования, предсказывающие аффинность для МНС класса I: NetMHCpan-4.1, PickPocket-1.1, NetMHCcons-1.1, NetMHC-4.0, – а также МНС класса II: NetMHCIIpan-4.1, NetMHCII-2.3. Программы были выбраны по следующим критериям: автономность, точность предсказаний, скорость работы, количество доступных аллелей МНС для анализа, возможность использования собственной пептидной последовательности МНС белка.

В качестве эталонных данных для тестирования были выбраны две библиотеки данных для МНС класса I и МНС класса II, взятых из The Immune Epitope Database (База данных иммунных эпитопов) [1]. При работе в Python использовались пакеты *os*, *numpy* и *pandas*. Для оценки быстродействия программ через Python использовалась библиотека *time*. Расчёты проводились на компьютере с 8-ядерным процессором с тактовой частотой 3,2 ГГц и 16 Гб оперативной памяти, а также SSD-диском.

СРАВНЕНИЕ ПРОГРАММ, ПРЕДСКАЗЫВАЮЩИХ АФФИННОСТЬ, В СРЕДЕ РАЗРАБОТКИ PYTHON

Одним из основных критериев нашего отбора является число аллелей МНС, представленных в программе и позволяющих на их основе рассчитать аффинность белка МНС с антигеном. Так число человеческих аллелей для NetMHC-4.0 равняется 81, для NetMHCpan-4.1 – 11858, для PickPocket-1.1 – 2931, для NetMHCcons-1.1 – 2924, для NetMHCII-2.3 – 54 и для NetMHCIIpan-4.1 – 5620 [2]. Кроме этого, NetMHCIIpan-4.1, NetMHCcons-1.1 и NetMHCpan-4.1 позволяют использовать собственную

пептидную последовательность молекулы МНС, что может быть особенно полезно при работе с редкими аллелями.

Для сравнения точности и скорости работы все программы были установлены на один персональный компьютер с целью создания единых условий для тестирования. Вызов соответствующих программ осуществлялся при помощи пакета *os* с функцией *os.system*. Точность предсказаний оценивалась по значению IC_{50} (нМ), которые были преобразованы следующим образом: $IC_{50} < 50$ считается высокой аффинностью, $50 < IC_{50} < 500$ – промежуточной и $IC_{50} > 500$ – низкой аффинностью [3].

Для экспериментов из двух библиотек было случайным образом отобрано 10000 эпитопов с данными связывания с 87 белками МНС класса I и 23 белками класса II. Среди программ, работающих с МНС класса I, самой точной программой оказался NetMHCcons-1.1 (рис. 1 А), а самой быстрой PickPocket-1.1 (рис. 1 Б). NetMHCIIP-2.3 оказался самой точной и быстрой программой, работающей с МНС класса II (рис. 2 А, Б).

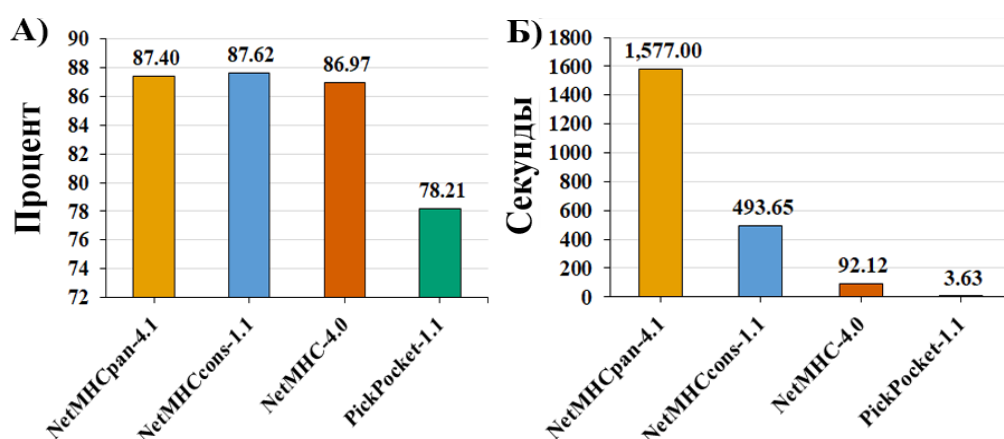


Рис. 1. Сравнение точности (А) и скорости (Б) расчётов аффинности для класса

Полученные результаты позволили нам выделить NetMHCcons-1.1 как лучшую программу для анализа связывания эпитопов с молекулами МНС класса I. Однако PickPocket-1.1 также может быть полезен при работе с большими объёмами данных. Лучшей программой для работы с МНС класса II оказалась NetMHCIIP-2.3, однако использование NetMHCIIP-4.1 остаётся необходимым для большинства работ, в связи с очень скудным набором аллелей у NetMHCIIP-2.3.

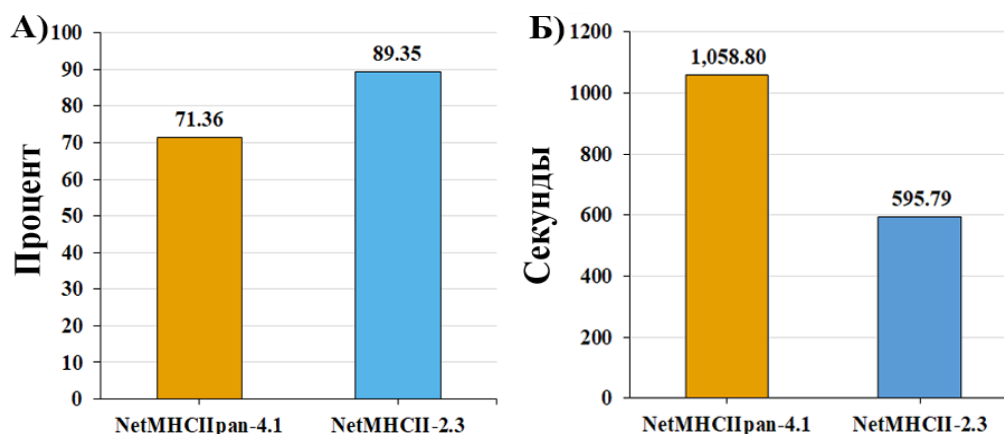


Рис. 2 Сравнение точности (А) и скорости (Б) расчётов аффинности для класса II

ПРОГНОЗ ИММУНОГЕННОСТИ НА ПРИМЕРЕ БЕЛКА MLANA

В ходе нашей работы было проведено прогнозирование связывания фрагментов белка MLANA с МНС белками человека, известных как HLA (Human Leukocyte Antigens). Белок MLANA является антигеном меланомы, поэтому его использование может потенциально помочь при разработке вакцин против данного вида рака.

Для прогнозирования использовались программы NetMHCcons-1.1 и NetMHCII-2.3. Аффинность MLANA к HLA класса I оценивалась по связыванию 8-аминокислотных пептидов с 20-ю аллелями HLA-A*01 (рис. 3 А). Для HLA класса II использовались 15-аминокислотные пептиды, которые связывались с 20-ю аллелями HLA-DR (рис. 3 Б). Линии на графиках (рис. 3) показывают пороговое значение аффинности для связывания, принятое за значение IC50 равное 500 нМ [3].

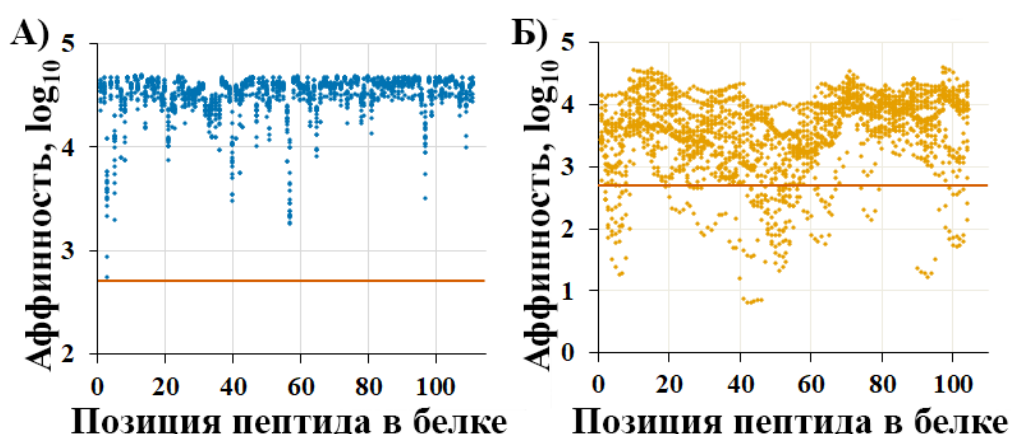


Рис. 3. Связывание пептидов молекулами HLA класса I (А) и класса II (Б)

Полученные результаты свидетельствуют о том, что фрагменты белка MLANA не связываются с HLA класса I, но имеют множество

сайтов связывания с HLA класса II. Это означает, что для использования MLANA как рекомбинантного белка дендритных клеток, необходима его дополнительная модификация. Примером такой модификации служит гибридный белок MLANA-FLAG®-LAMP1. Предполагается, что сигнальный домен LAMP-1 будет перенаправлять белок в лизосому, где и будет происходить его фрагментация и связывание с молекулами HLA класса II [4].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вакцинация на основе дендритных клеток является перспективным, но в тоже время проблемным направлением в иммунотерапии. Она имеет ряд достоинств, которые выгодно выделяют её на фоне других направлений. Поэтому крайне важно создать благоприятную почву для её дальнейшего развития.

По итогам нашей работы были отобраны наиболее эффективные программы для работы с MHC класса I и II. Также было продемонстрировано их использование для прогнозирования иммуногенности опухолевого белка на примере MLANA. Получаемые данные прогнозирования могут использоваться как основа для разработки генно-инженерных белков, которые будут использоваться в производстве готовой вакцины.

Таким образом отобранные программы могут служить краеугольным камнем пайплайнов, направленных на обнаружение потенциальных неоантигенов опухоли и прогнозирование их иммуногенности, а также сборку гибридных белков для создания более эффективной вакцины.

Библиографические ссылки

1. Datasets [Electronic resources] // IEDB Analysis Resource : [site]. [2005].
2. Immunological features [Electronic resources] // DTU Health Tech : [site]. [2020].
3. Interpreting predicted affinities and percentile ranks [Electronic resources] // IEDB Analysis Resource : [site]. [2005].
4. LAMP1_HUMAN [Electronic resources] // UniProt : [site]. [2003].