

Таким образом, оптимальными концентрациями моноклональных антител IgG-FITC для сорбции на поверхности изученных нанопленок серебра NP-AgC1, NP-AgC2, NP-AgC3 являются 400 нг и 500 нг в пробе. В этих концентрациях для нанопленок серебра любой организации наблюдается наивысшие показатели сорбции, так как заполнены все возможные свободные центры для связывания белка.

На сорбционную емкость изучаемых нанопленок влияет в большей степени пространственная организация наноструктурированных пленок серебра, чем концентрация покрывающего полиэлектrolита ПДАДМАХ. На нанопленке NP-AgC1, покрытой ПДАДМАХ-С2, сорбция антител возрастает в 2,7 раз, в то время как на нанопленке NP-AgC2 с покрытием полиэлектrolита в аналогичной концентрации, сорбция моноклональных антител увеличилась в 5,1-5,2 раза. Для нанопленок NP-AgC1 и NP-AgC3 концентрация покрывающего полиэлектrolита не имела влияния на количество иммобилизуемого иммуноглобулина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Highly sensitive immunofluorescence assay of prostate-specific antigen using silver nanoparticles I. V. Koktysh [et.al.]. // *Journal of Applied Spectroscopy*. – 2020. – Vol. 87, № 5. – P. 796–803. – DOI: 10.1007/s10812-020-01083-2.
2. Влияние полиэлектrolитов на увеличение чувствительности иммунофлуоресцентного анализа на основе плазмонных серебряных наночастиц / И.В. Коктыш [и др.]. // *ЖБГУ. Биология*. – 2020. – №3. – С. 72-80. – DOI: 10.33581/2521-1722-2020-3-72-80.
3. Оптимизация структурных и оптических параметров плазмонных пленок серебра для флуоресцентного анализа конъюгата IgG-FITC / О.С. Кулакович [и др.]. // *Журнал прикладной спектроскопии*. – 2023. – Т.90, № 1. – С. 48-55. DOI: 10.47612/0514-7506-2023-90-1-48-55.
4. Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches / X.-F. Zhang [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2016. – Vol. 17. – DOI:10.3390/ijms17091534.
5. Protein-based polyelectrolyte multilayers / A. vander Straeten. [et.al.] // *Advances in Colloid and Interface Science*. – 2020. – Vol. 280. DOI: 10.1016/j.cis.2020.102161.
6. Ion-implanted silver nanoparticles for metal-enhanced fluorescence / S. Iqbal [et al.] // *AIP Advances*. – 2018. – Vol. 8, № 9. – DOI: 10.1063/1.5045570.
7. Huang, J. Surface Forces between Highly Charged Cationic Polyelectrolytes Adsorbed to Silica: How Control of pH and the Adsorbed Amount Determines the Net Surface Charge / J. Huang, X. Liu and E. Thormann // *Langmuir*. – 2018. – Vol. 34. – № 25. – P. 7264-7271. DOI: 10.1021/acs.langmuir.8b00909.
8. Gao, S. Protein–Polyelectrolyte Complexes and Micellar Assemblies. / S. Gao, A. Holkar, S. Srivastava // *Polymers*. – 2019. – Vol. 11. - №7. – P. 1097. DOI:10.3390/polym11071097.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ МЕЖДУ ФЛУДАРАБИНОМ И ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ БЕТА МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

MODELING OF INTERACTIONS BETWEEN FLUDARABINE AND DNA POLYMERASE BETA BY THE METHOD OF MOLECULAR DYNAMICS

**С. Альбасри^{1,2}, А. А. Августинович^{1,2},
М. А. Ханчевский^{1,2}, Е. И. Квасюк^{1,2}, А. Г. Сыса^{1,2}**
S. Albasri^{1,2}, A.A. Avgustinovich^{1,2}, M.A. Khanchevskii^{1,2}, E.I. Kvasyuk^{1,2}, A.G. Sysa^{1,2}

¹Учреждение образования «Международный государственный экологический институт
имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ
Минск, Республика Беларусь
yuridragonv@gmail.com

²Белорусский государственный университет, БГУ, г. Минск, Республика Беларусь

¹International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, ISEI BSU
Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian State University, BSU, Minsk, Republic of Belarus

В работе рассматривается одна из актуальных проблем – моделирование межмолекулярных взаимодействий биологически активных соединений ряда модифицированных нуклеотидов с ферментами репликации ДНК с использованием молекулярно-динамических подходов. В настоящей работе проведен молекулярный докинг взаимодействий фермента, участвующего в синтезе ДНК (ДНК-полимераза β) и лиганда (флударабина). Проанализированы результаты для полученных 80 систем, отобраны репрезентативные структуры комплексов на основе кластеризации и ранжирования по баллам результатов молекулярного докинга. Установлено, что в ходе докинга ДНК-полимеразы бета и флударабина возникает 5 водородных связей между аминокислотами Arg40, Arg183, Asp276 и Asp192 ДНК-полимеразы бета и атомами кислорода гидроксильных

групп флударабина. При этом аминокислота Asp276 формирует две водородные связи с атомами кислорода гидроксильных групп флударабина.

The paper deals with one of the topical problems – modeling of intermolecular interactions of biologically active compounds of a number of modified nucleotides with DNA replication enzymes using molecular dynamics approaches. In this work, we performed molecular docking of interactions between an enzyme involved in DNA synthesis (DNA polymerase β) and a ligand (fludarabine). The results for the obtained 80 systems were analyzed, representative structures of the complexes were selected based on clustering and ranking by scores of the results of molecular docking. It was found that during the docking of DNA polymerase beta and fludarabine, 5 hydrogen bonds arise between the amino acids Arg40, Arg183, Asp276 and Asp192 of DNA polymerase beta and the oxygen atoms of the hydroxyl groups of fludarabine. At the same time, the amino acid Asp276 forms two hydrogen bonds with the oxygen atoms of the hydroxyl groups of fludarabine.

Keywords: docking, modified nucleosides, DNA replication enzymes, antimetabolites, DNA polymerase.

Ключевые слова: докинг, модифицированные нуклеозиды, ферменты репликации ДНК, антиметаболиты, ДНК-полимераза.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2023-1-410-413>

Низкомолекулярные фрагменты нуклеиновых кислот, такие как пуриновые и пиримидиновые основания, нуклеозиды и нуклеотиды, при наличии в их структуре любых изменений в сравнении со структурой природного соединения, относятся к классу антиметаболитов. Наиболее часто встречающиеся изменения в структуре природных компонентов нуклеиновых кислот связаны с введением, заменой, удалением или созданием новых функциональных групп в гетероциклическом основании, углеводном фрагменте или фосфатном остатке, а также с заменой рибозы и дезоксирибозы на такие сахара, как арабиноза, ксилоза и другие производные углеводов.

Обилие функциональных групп в составе метаболитов позволяет синтезировать большое число антиметаболитов с разнообразной биологической активностью. Пока невозможно достоверно предсказать тип активности синтезированного антиметаболита, но работы в области изучения связи между активностью и структурой являются одним из интенсивно развивающихся направлений химии антиметаболитов. В то же время известно, что большинство антиметаболитов обладает противоопухолевой и антивирусной активностью. В клинической практике десятки лет применяются в качестве лекарственных препаратов такие соединения, как фторурацил, меркаптогуанин, цитозинарабинозид, азатимидин, ацикловир и др. Механизм действия антиметаболитов весьма разнообразен, но связан, в основном, с влиянием на ферменты, участвующие в синтезе и функционировании нуклеиновых кислот.

К антиметаболитам нового поколения, которые используются в качестве противоопухолевых препаратов, относятся кладрибин, клофарабин, кселода, флударабин фосфат, неларабин, гемцитабин и др. На разных стадиях клинических испытаний находятся сапацитабин, мерицитабин, софосбувир, 8-хлорадеозин и 8-аминоадеозин.

Новым направлением в создании противоопухолевых соединений является поиск соединений – ингибиторов специфичного фермента теломеразы, присутствующего в опухолевых клетках и предотвращающего их апоптоз. Одним из таких ингибиторов теломеразы является 2'-дезоксиг-6-тиогуанозин, синтез которого в достаточных для практического применения количествах в настоящее время представляет определённые трудности.

В создании новых лекарственных препаратов, помимо синтеза соединения, присутствует также проблема разработки технологии получения фармацевтической субстанции на его основе. В случае препаратов на основе антиметаболитов, для успешного решения этих проблем в настоящее время используются, как правило, комбинации химических и микробиологических методов. Исследования в области синтеза антиметаболитов, пригодных для практического применения, являются актуальными, представляют научную и практическую значимость и требуют наличия высококвалифицированных специалистов.

Существующие в настоящий момент физические и химические методы исследования не позволяют в полной мере оценить вклад тех или иных структурных факторов ни в субстратную специфичность ферментов, ни в каталитический механизм их действия. Методы молекулярной динамики позволяют изучать не только статичные структуры, но и в рамках определённого рода приближений, процессы, в них происходящие. Поэтому детальное исследование каталитической активности и субстратной специфичности ферментов репликации ДНК на атомном уровне представляется современной и актуальной биохимической задачей.

В настоящей работе проведен лиганд-белковый докинг между молекулой модифицированного нуклеотида флударабина и важного фермента репликации ДНК-полимеразы бета (рис. 1).

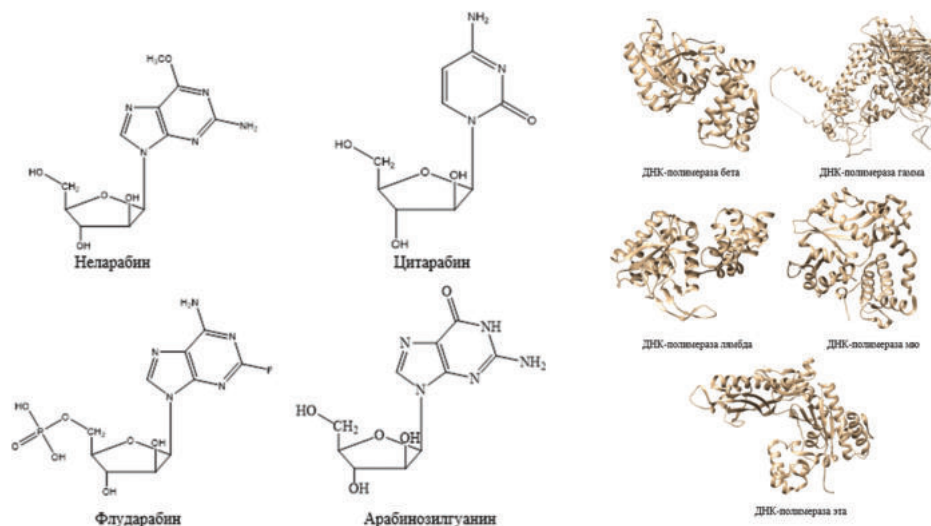


Рисунок 1 – Структуры моделируемых молекул

Возникновение резистентности к действию лекарственных препаратов требует их постоянного обновления для обеспечения эффективности процесса лечения различных заболеваний. В результате постоянно проводимых научных исследований по поиску биологически активных соединений появляются препараты нового поколения. Одними из таких соединений являются модифицированные нуклеозиды.

Цитотоксические аналоги нуклеозидов широко применяются в современной клинической практике в качестве препаратов первого выбора для терапии ряда злокачественных заболеваний человека. Нуклеозиды, обладающие противоопухолевыми свойствами, созданы на основе природных соединений пуринового и пиримидинового ряда. Они применяются в онкологии для терапии как солидных опухолей, так и для лечения злокачественных поражений системы кроветворения. Соединения данного типа нацелены на различные внутриклеточные процессы, действуют как антиметаболиты, заменяя природные нуклеозиды в процессе синтеза ДНК и РНК и как ингибиторы ряда клеточных ферментов.

Флударабин – цитостатический препарат, антиметаболит из группы антагонистов пуринов. Обладает весьма выраженной иммуносупрессивной активностью, превосходящей иммуносупрессивную активность меркаптопурина, азатиоприна и метотрексата.

В силу выраженной иммуносупрессивной активности флударабин получил применение не только по основным показаниям (лимфолейкозы и неходжкинские лимфомы), но и в качестве одного из компонентов режима кондиционирования реципиента при трансплантации костного мозга, а также при лечении острых форм реакций трансплантата против хозяина и реакций отторжения трансплантата.

Флударабин сам не обладает противоопухолевой активностью при остром миелоидном лейкозе (ОМЛ), однако повышает концентрацию активного метаболита цитарабина в лейкозных клетках, так называемого 5-ара-ЦТФ, и улучшает результаты лечения ОМЛ цитарабином и доксорубицином, что послужило причиной разработки современных протоколов лечения ОМЛ со включением флударабина фосфата.

ДНК-полимераза бета (β), также известная как POLB, является ферментом, присутствующим у эукариот. В эукариотических клетках ДНК-полимераза бета (POLB) выполняет базовую эксцизионную репарацию (BER), необходимую для поддержания ДНК, репликации, рекомбинации и лекарственной устойчивости.

Большинство видов ДНК-полимераз β гиперэкспрессивны во многих злокачественных опухолях. Это делает ферменты данной группы легитимными мишенями для ингибиторов-фармакофоров или, точнее, для атаки химиотерапевтических агентов с высокой афинностью к ферменту.

Отличительным признаком ДНК-полимеразы бета является полное отсутствие 3',5'-экзонуклеазной активности.

Установлено, что в ходе докинга ДНК-полимеразы бета и флударабина возникает 5 водородных связей между аминокислотами Arg40, Arg183, Asp276 и Asp192 ДНК-полимеразы бета и атомами кислорода гидроксильных групп флударабина. При этом аминокислота Asp276 формирует две водородные связи с атомами кислорода гидроксильных групп флударабина (рис. 2, рис. 3).

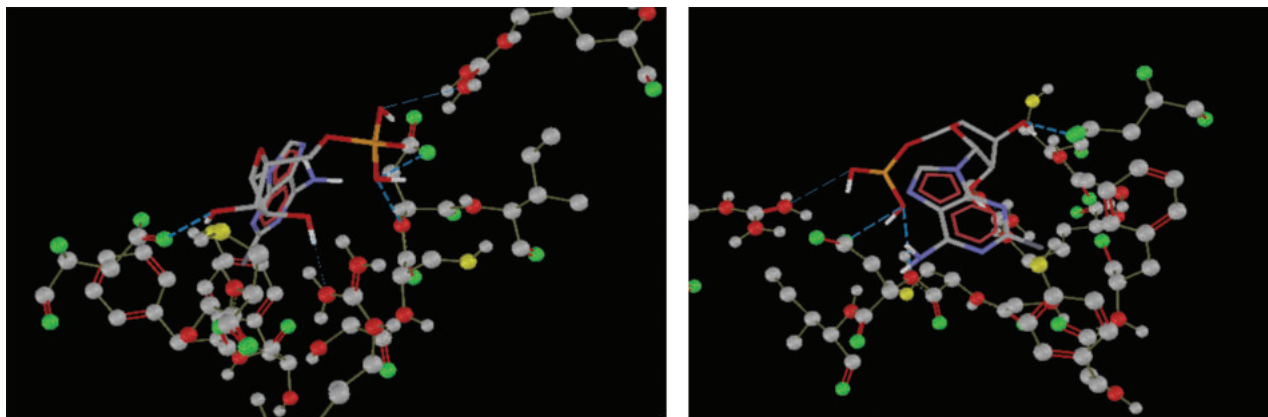


Рисунок 2 – Остатки фермента ДНК-полимеразы бета (2FMP), участвующие в распознавании и связывании модифицированного нуклеотида флударабина

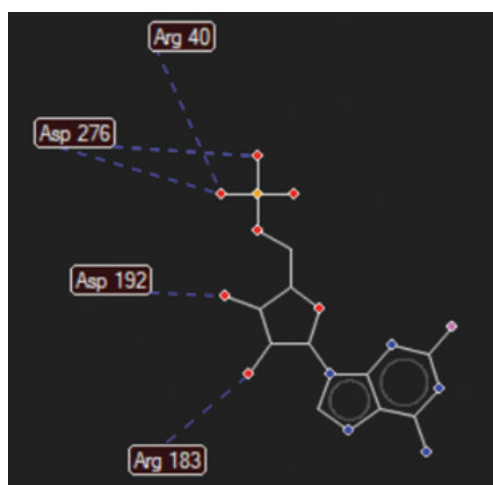


Рисунок 3 – Схема расположения водородных связей между ДНК-полимеразой бета и флударабином

В настоящей работе проведен молекулярный докинг взаимодействий фермента, участвующего в синтезе ДНК (ДНК-полимераза β) и лиганда (флударабина). Проанализированы результаты для полученных 80 систем, отобраны репрезентативные структуры комплексов на основе кластеризации и ранжирования по баллам результатов молекулярного докинга.

REFERENCES

1. Бухвостов, А.А. Уникальная бета-подобная ДНК-полимераза из хроматина клеток острого миелоидного лейкоза человека HL-60 / А.А. Бухвостов, А.П. Орлов, О.А. Шаталов, Д.А. Кузнецов // Гены & клетки. – 2014. – Т. 19, № 2. – С. 46–52.
2. Weiner, S.J. A New Force Field for Molecular Mechanical Simulation of Nucleic Acids and Proteins / S. J. Weiner [et al.] // Journal of the American Chemical Society. – 1984. – Vol.106, № 3. – P. 765.
3. Prasad, R. DNA polymerase β : the missing link of the base repair mechanism in mammalian mitochondria / R. Prasad [et al.] // DNA Repair. – 2017. – №60. – P. 77-88.
4. Meiler, J. Protein–Small Molecule Docking with Full Side-Chain Flexibility / J. Meiler, D. Baker // PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics. – 2006. – № 65. – P. 538.
5. Tournilhac, O., Impact of frontline fludarabine and cyclophosphamide combined treatment on peripheral blood stem cell mobilization in B-cell chronic lymphocytic leukemia / O. Tournilhac [et al.] // Blood. – 2010. – Vol.103, № 1. – P. 363–365.