

УДК 577

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ НИЗИНА И ДАПТОМИЦИНА С HIS₆-ОРН

Домнин М.В., студент 5 курса химического факультета,
domninmaxchem@gmail.com

Научные руководители – Ефременко Е.Н., доктор биологических наук, профессор; Асланлы А.Г., кандидат химических наук
МГУ имени М.В. Ломоносова

Ключевые слова: антимикробные пептиды, кворумный ответ, лактон-содержащие молекулы, гексагистидинсодержащая органофосфатгидролаза.

В данной работе с использованием компьютерных методов молекулярного анализа были смоделированы и исследованы взаимодействия различных антимикробных пептидов широкого спектра антимикробного действия с ферментом, способным гидролизовать лактон-содержащие сигнальные молекулы кворума антибиотикорезистентных микроорганизмов. В результате предсказаны наиболее эффективные комбинации «фермент-антимикробный пептид».

Введение. Поиск новых подходов к решению проблемы антибиотикорезистентности и эффективному подавлению роста и развития различных микробных контаминантов является одной из важнейших задач на сегодняшний день. Известно, что большинство грамотрицательных бактерий, а также дрожжи используют лактонсодержащие соединения в качестве сигнальных молекул-индукторов механизма кворумного ответа (Quorum sensing, QS), проявляющегося в способности клеток микроорганизмов взаимодействовать друг с другом, демонстрируя повышенную устойчивость клеток к противомикробным агентам. Среди этих аутоиндукторных молекул известны молекулы различных *N*-ацилгомосеринлактонов (АГЛ), γ -бутиролактон и его производные [1]. Одним из основных способов преодоления формирования QS и

повышения устойчивости клеток микроорганизмов к воздействию антимикробных веществ является использование различных ферментов (лактоназы, ацилазы и др.), способных гидролизовать лактон-содержащие сигнальные молекулы QS. Фермент гексагистидинсодержащая орнанофосфатгидролаза (His₆-OPH) также относится к числу ферментов, способных гидролизовать лактон-содержащие молекулы QS, и его гидролитическая активность в отношении ряда субстратов превосходит аналогичный параметр для известных ферментов с лактоназной активностью. Ранее было показано, что комбинированное применение His₆-OPH с различными антимикробными агентами приводит к значительному увеличению эффективности действия последних [2].

Существует большое количество научных работ, посвященных изучению антимикробных пептидов (АМП) с широким спектром антимикробного действия, в отношении которых не наблюдается резистентность у различных микроорганизмов. Эти свойства позволяют рассматривать их в качестве потенциальной альтернативы для известных и применяемых на практике антибиотиков [3]. В связи с этим, комбинирование различных АМП с ферментом, гидролизующим лактон-содержащие сигнальные молекулы кворума представляется весьма интересным.

Целью данной научно-исследовательской работы было исследовать с использованием компьютерных методов возможность комбинирования His₆-OPH с различными АМП для разработки каталитически активных комбинированных средств на основе His₆-OPH с антимикробной активностью в отношении широкого спектра устойчивых микроорганизмов.

Результаты исследований. С помощью методов молекулярного моделирования были получены модели возможных взаимодействий молекул двух разных АМП низина и даптомицина с поверхностью димерной молекулы фермента His₆-OPH при двух значениях pH 7,5 (как pH, наиболее близкий к физиологическим условиям) и 10,5 (соответствующий максимуму каталитической активности His₆-OPH) (Рис. 1). В полученных моделях были изучены различные характеристики взаимодействий (аффинность, заряд, площадь контакта со всей поверхностью фермента и вблизи его активных центров)

(Таблица 1). Было установлено, что молекулы даптомицина в значительной степени перекрывают доступ в активные центры (а.ц.) фермента при обоих значениях pH. В случае молекул низина степень перекрывания доступа в а.ц. фермента оказалась незначительной.

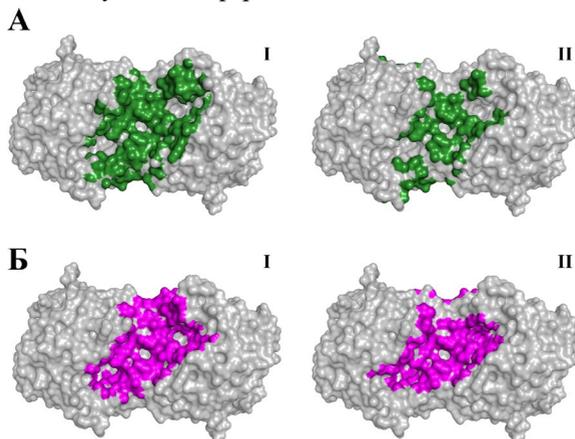


Рис. 1. Расположение молекул низина (А) и даптомицина (Б) на передней поверхности (относительно области расположения активных центров) димера His₆-ОРН при рН 7,5 (I) и 10,5 (II). Площадь, занимаемая молекулами низина и даптомицина на поверхности фермента, окрашена в зеленый и малиновый цвета, соответственно.

Таблица 1. Рассчитанные значения аффинности (энергии связывания) и площади, занимаемые антимикробными полипептидами при их взаимодействии с His₆-ОРН.

АМП	рН	Аффинность, кДж/моль		Площадь, %	
		Медиана	Р-значение	Суммарная	Вблизи активных центров
Низин	7,5	-18,8±1,1	<0,001	20	0,06
	10,5	-26,2±1,2		21	0,08
Даптомицин	7,5	-30,1±0,8	<0,001	11,1	0,8
	10,5	-27,6±0,9		11,2	0,85

При этом энергия взаимодействия даптомицина с молекулой фермента была также сравнительно выше, чем в случае взаимодействия низин-His₆-ОРН, в частности, при значении рН 7,5.

Выводы. Таким образом, в результате докинга молекул даптомицина и низина к поверхности молекулы His₆-ОРН, проведенного в данной работе, было показано, что в присутствии молекул низина сохраняется доступность активного центра фермента для каталитической реакции и, следовательно, комбинирование данного АМП с His₆-ОРН является наиболее целесообразным для получения эффективно действующих антимикробных препаратов.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта РНФ 23-14-00092.

Библиографический список:

1. Jagtap S.S., Bedekar A.A., Rao C. V. Quorum Sensing in Yeast: chapter // ACS Symp. Ser. American Chemical Society, 2020. Vol. 1374. P. 235–250.
2. Aslanli A., Lyagin I., Efremenko E. Novel approach to quorum quenching: Rational design of antibacterials in combination with hexahistidine-tagged organophosphorus hydrolase // Biol. Chem. 2018. Vol. 399, № 8. P. 869–879.
3. Huan Y. et al. Antimicrobial Peptides: Classification, Design, Application and Research Progress in Multiple Fields // Front. Microbiol. 2020. Vol. 11, № October. P. 1–21.

STUDY OF THE INTERACTIONS OF VARIOUS ANTIMICROBIAL PEPTIDES WITH AN ENZYME WITH LACTONASE ACTIVITY

Domnin M.V.

Keywords: *antimicrobial peptides, quorum sensing, signaling molecules, hexahistidine-containing organophosphorus hydrolase.*

In this work, using computational methods, models of interactions of various broad-spectrum antimicrobial peptides with an enzyme capable of hydrolyzing lactone-containing signaling molecules of the quorum sensing of resistant microorganisms were obtained. The characteristics of the interaction in the obtained models were studied and the most effective combinations of the enzyme-antimicrobial peptide in terms of antimicrobial activity and catalytic stability were predicted.