

ПРИМЕНЕНИЕ КРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ СПАЙКОВОГО БЕЛКА SARS-CoV-2 ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ПЕПТИДНОЙ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ВАКЦИНЫ

© 2023 г. А. С. Ивановский^{2,*}, И. А. Колесников¹, Ю. В. Кордонская^{1,2}, А. В. Ермаков¹, М. А. Марченкова^{1,2}, В. И. Тимофеев^{1,2}, Ю. В. Писаревский^{1,2}, Ю. А. Дьякова¹, М. В. Ковальчук¹

¹Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва, Россия

²Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ “Кристаллография и фотоника РАН, Москва, Россия

*E-mail: a. Iwanowski@gmail.com

Поступила в редакцию 20.06.2023 г.

После доработки 24.07.2023 г.

Принята к публикации 24.07.2023 г.

На основе спайкового белка вируса SARS-CoV-2 предсказан белок, который может вызывать иммунный ответ. Методом молекулярной динамики подтверждена стабильность белка в растворе. Иммуномоделирование показало, что данный белок вызывает иммунную реакцию и, соответственно, может служить прототипом вакцины.

DOI: 10.31857/S0023476123600349, EDN: ABZIFA

ВВЕДЕНИЕ

SARS-CoV-2 — это вирус, вызывающий заболевание COVID-19 [1–3], которое может иметь крайне тяжелые последствия вплоть до летального исхода [4]. SARS-CoV-2 относится к подроду *Sarbecovirus* рода *Betacoronavirus* [5] и представляет собой РНК-содержащий оболочечный вирус, геном которого состоит примерно из 30000 нуклеотидов [6]. В настоящее время разработано несколько прошедших клинические испытания вакцин, а также более двухсот прототипов вакцин [7–11]. Тем не менее вирус подвержен различного рода мутациям, поэтому разработанные ранее вакцины могут быть неэффективны против новых мутантных форм вируса. Одним из таких примеров может служить вариант вируса под названием “Омикрон”, который может заражать ранее вакцинированных людей [12], что делает актуальной задачу по созданию эффективной вакцины против как варианта “Омикрон”, так и против возмозможных последующих мутантных форм SARS-CoV-2.

Одной из главных иммуногенных детерминант SARS-CoV-2 является так называемый спайковый белок — особенность коронавирусов [13]. Данный белок является трансмембранным и отвечает за инвазию генетического материала вируса в клетку [13]. Для данного белка определена пространственная структура (PDB ID: 7WK3). Известно, что трансмембранные белки обычно не растворимы в воде и крайне сложны для получения. Поэтому в данной работе применен осно-

ванный на методах иммуноинформатики подход, заключающийся в том, что выделяется фрагмент белка, содержащий эпитопы и с большой вероятностью растворимый в воде.

В настоящей работе выделен фрагмент спайкового белка SARS-CoV-2, который насыщен эпитопами и может приводить к иммунному ответу. Методом молекулярной динамики (МД) оценена устойчивость выделенного фрагмента в водно-солевом растворе. С применением иммуномоделирования показано, что выделенный фрагмент вызывает иммунный ответ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выделен фрагмент спайкового белка SARS-CoV-2 для дальнейшей работы с ним. Для получения модели фрагмента использовали программу PyMol [14].

Для МД-моделирования использовали пакет GROMACS [15] версии 2020.3.

В качестве силового поля выбран AMBER99SB-ILDN [16], модели воды — TIP3P. Кроме того, в систему было добавлено 0.15 М KCl. Для нейтрализации заряда системы были добавлены некоторые дополнительные ионы. Минимизацию энергии проводили с шагом 1 фс до максимальной силы 1000.0 кДж/моль/нм. Давление и температуру уравнивали до 1 атм и 310 К путем запуска моделирования в NVT- и NPT-ансамбле (100 пс каждый) соответственно. Давление и температуру

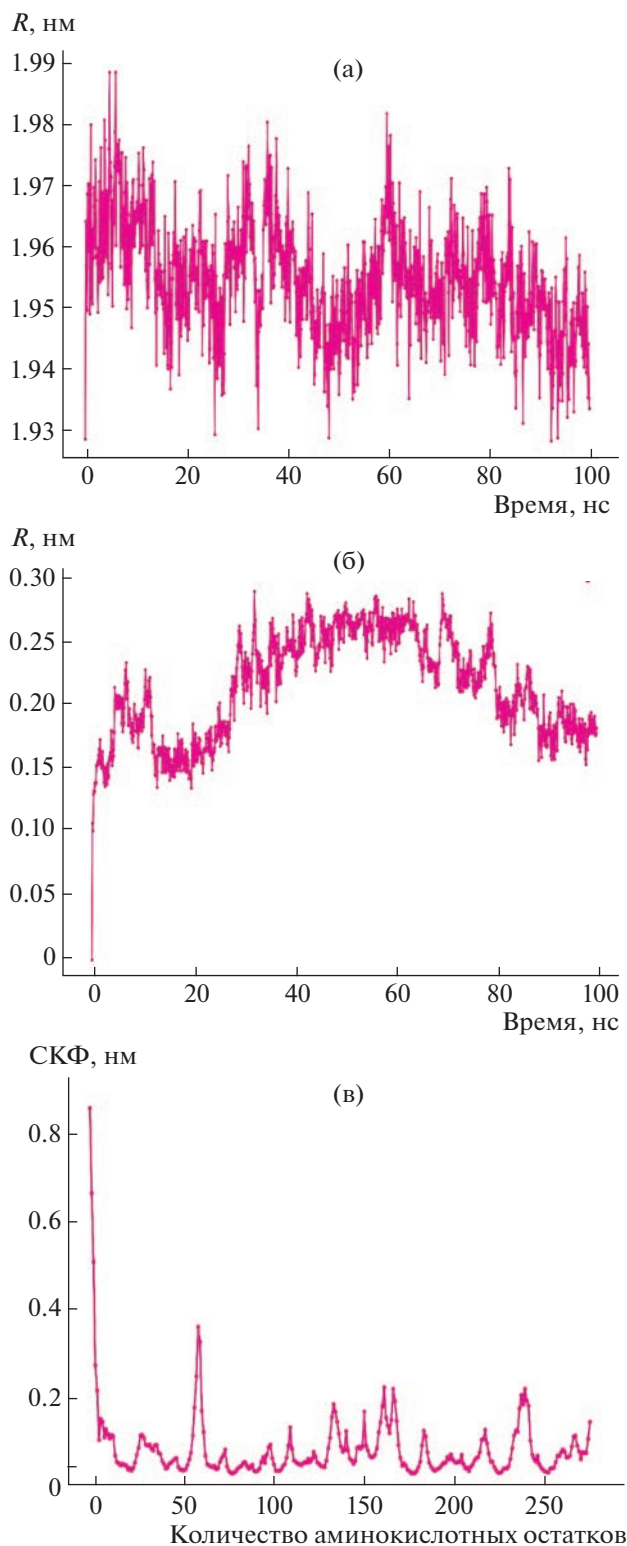


Рис. 1. Радиус гирации (а) и СКФ (б) СКФ атомов (в) фрагмента иммуногенного белка вируса SARS-CoV-2.

системы контролировали с помощью модифицированного термостата Берендсена [17] и баростата Паринелло–Рахмана [18]. Продуктивное 100 нс

МД-моделирование проводили в изотермическо-изобарическом ансамбле с временным шагом 2 фс. Алгоритм LINCS [19] использовали для ограничения связей с участием атомов водорода. Дальнействующие электростатические взаимодействия рассчитывали с использованием схемы суммирования Particle-Mesh Ewald [20].

Для предсказания иммунного ответа использовали приложение C-IMMSIMM [21]. Данный сервер — один из самых точных для предсказания иммунного ответа и прогнозирования адаптивного иммунитета. Сервер использует алгоритмы машинного обучения [22]. Наряду с методами машинного обучения применяли подход, основанный на позиционной весовой матрице (PSSM) [23]. Количество шагов моделирования сервера C-IMMSIMM [21] составляло 1000.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ траекторий выполнен для 100 нс. Анализировали среднеквадратичные отклонения (СКО), радиус инерции и среднеквадратические флуктуации (СКФ). Соответствующие графики показаны на рис. 1. СКО показаны на рис. 1б. СКО стабилизируется между 0.1 и 0.15 нм, что с учетом размера моделируемой системы говорит о ее высокой стабильности. Рисунок 1а показывает, что радиус инерции имеет тенденцию к уменьшению, что свидетельствует о компактизации белка во время моделирования. СКФ атомов C- α -прототипа вакцины показаны на рис. 1в. Наиболее подвижные участки белка относятся к С-концевому участку и подвижной петле.

С использованием иммуномоделирования показано, что стойкий первичный и вторичный иммунный ответ вызывается прототипом вакцины. Иммуномоделирование проводили для двух доз антигена, вводимого с промежутком в 25 дней. Введение антигена приводит к повышению уровня активных В-клеток (рис. 2а), плазматических В-клеток (рис. 2б), Т-клеток (рис. 2в), а также иммуноглобулинов (рис. 2г). Кроме того, прототип вакцины стимулирует хелперные Т-клетки. При воздействии прототипа вакцины вырабатываются также интерферон гамма, интерлейкин-23, интерлейкин-10, интерферон бета и ряд цитокинов (рис. 2д). Такое повышение, в том числе, иммуноглобулинов, цитокинов, антигенпрезентирующих, активных В- и Т-клеток, указывает на эффективность предсказанного прототипа вакцины против варианта “Омикрон” SARS-CoV-2. Тем не менее разработанный прототип требует экспериментальной проверки, чтобы доказать его эффективность и отсутствие токсического эффекта.

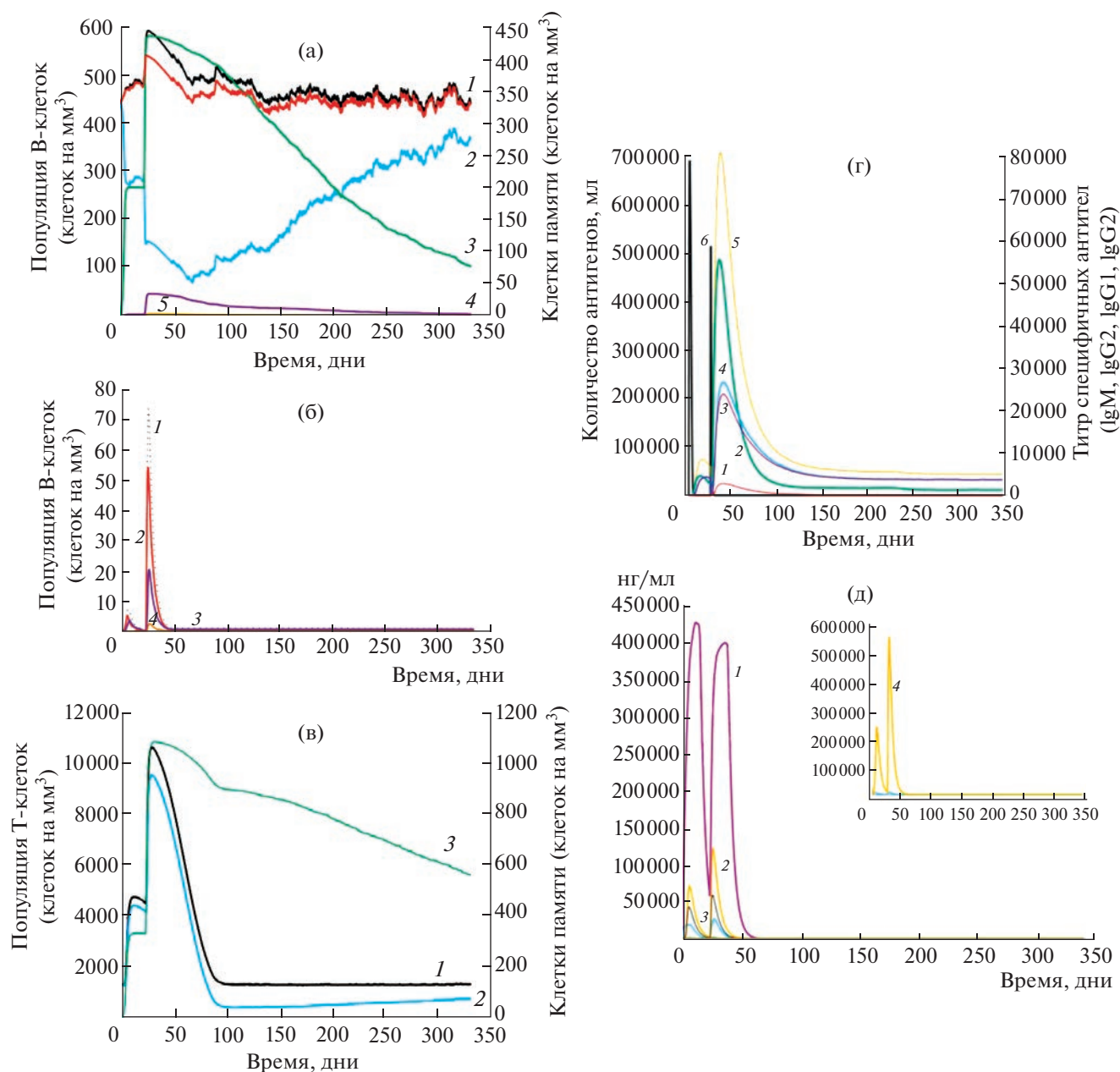


Рис. 2. Временные зависимости клеток, представляющих иммунный ответ организма человека на введение антигена: популяции В-клеток (а): 1 – общее значение, 2 – неактивированные В-клетки, 3 – В-клетки памяти, 4 – В-изотип IgG1, 5 – В-изотип IgG2. Особое внимание следует обратить на популяцию компетентных В-клеток (2); плазматических В-клеток (б): 1 – IgM + IgG, 2 – IgM, 3 – IgG1, 4 – IgG2; популяции Т-клеток (в): 1 – активные, 2 – апатические, 3 – покоящиеся, 4 – повторяющиеся; иммуноглобулинов (г): 1 – IgG2, 2 – IgM, 3 – IgG1, 4 – IgG1 + IgG2, 5 – IgM + IgG, 6 – Ag; концентрации цитокинов (врезка) и интерлейкинов (д): 1 – интерферон гамма, 2 – трансформирующий фактор роста бета, 3 – интерлейкин-10, 4 – интерлейкин-2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные результаты подтверждают возможность производить пептидные вакцины из фрагментов иммунокомпетентных белков. Показано, что выделенный фрагмент иммуногенного белка варианта “Омикрон” SARS-CoV-2 стабилен в водно-солевом растворе и способен вызы-

вать клеточный ответ. На основе полученного фрагмента будет проведена разработка вакцины против варианта “Омикрон” SARS-CoV-2.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках Федеральной научно-технической программы развития синхротронных и нейтронных исследований и исследовательской инфраструк-

туры на 2019–2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1355 (12 октября 2021 г.)).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Chan J.F.-W., Yuan S., Kok K.-H. et al.* // *Lancet*. 2020. V. 395. № 10223. P. 514.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30154-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30154-9)
2. *Zhu N., Zhang D., Wang W. et al.* // *N. Engl. J. Med.* 2020. V. 382. P. 727.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>
3. WHO (2020) Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard. World Heal. Organ.
4. Clinical management of severe acute respiratory infection when novel coronavirus (2019-nCoV) infection is suspected: interim guidance, WHO, 2020, 28 January.
5. *Randhawa G.S., Soltysiak M.P.M., El Roz H. et al.* // *PLoS ONE*. 2020. V. 16 (1). E. 0232391.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232391>
6. *Dongwan K., Lee J.-Y., Yang J.-S. et al.* // *Cell*. 2020. V. 181. № 4. P. 914.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.011>
7. WHO Draft Landscape of COVID-19 Candidate Vaccines. WHO, Geneva-2020.
8. *Smith Trevor R.F., Patel A., Ramos S. et al.* // *Nat. Commun.* 2020. V. 11. P. 2610.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-16505-0>
9. *Mulligan Mark J., Lyke K.E., Kitchin N. et al.* // *Nature*. 2020. V. 586. P. 589.
<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2639-4>
10. *Zhu F.-C., Guan X.-H., Li Y.-H. et al.* // *Lancet*. 2020. V. 396. № 10249. P. 479.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31605-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31605-6)
11. *Gao Q., Bao L., Mao H. et al.* // *Science*. 2020. V. 369. № 6499. P. 77.
12. *Cao Y., Yisimayi A., Jian F. et al.* // *Nature*. 2022. V. 608. P. 593.
<https://doi.org/10.1038/s41586-022-04980-y>
13. *Gallagher T.M., Buchmeier M.J.* // *Virology*. 2001. V. 279. № 2. P. 371.
<https://doi.org/10.1006/viro.2000.0757>
14. <https://pymol.org/2/>
15. *Abraham M.J., Murtola T., Schulz R. et al.* // *SoftwareX*. 2015. V. 1. P. 19.
<https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001>
16. *Lindorff-Larsen K., Piana S., Palmo K. et al.* // *Proteins*. 2010. V. 78. P. 1950.
<https://doi.org/10.1002/prot.22711>
17. *Berendsen H.J.C., Postma J.P.M., van Gunsteren W.F. et al.* // *J. Chem. Phys.* 1984. V. 81. № 8. P. 3684.
<https://doi.org/10.1063/1.448118>
18. *Parrinello M., Rahman A.* // *J. Chem. Phys.* 1982. V. 76. № 5. P. 2662.
<https://doi.org/10.1063/1.443248>
19. *Hess B., Bekker H., Herman J.C. et al.* // *J. Comput. Chem.* 1997. V. 18. P. 1463.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096)
20. *Darden T., York D., Pedersen L.* // *J. Chem. Phys.* 1993. V. 98. № 12. P. 10089.
<https://doi.org/10.1063/1.464397>
21. <https://kraken.iac.rm.cnr.it/C-IMMSIM/index.php>
22. *Luckheeram R.V., Zhou R., Verma A.D., Xia B.* // *J. Immunol. Res.* 2012. Art. 925135.
<https://doi.org/10.1155/2012/925135>
23. *Rapin N., Lund O., Bernaschi M., Castiglione F.* // *PubMed*. 2010.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.000986>