

КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ И РАСЧЕТ ЛИГАНДОВ ДЛЯ АФФИННОЙ ОЧИСТКИ ФАКТОРА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ VIII.

Дмитриенко Д.В.

Гематологический Научный Центр РАМН, Россия, 125167, Москва, Новый Зыковский проезд, 4а, +7(917)574-8901, castasat@lmbt.ru

Препарат рекомбинантного фактора свертываемости крови VIII применяется при кровотечениях, обусловленных гемофилией А и В, а также болезнью Виллебранда. Наиболее сложной стадией очистки рекомбинантных белков, экспрессируемых в эукариотических системах, является аффинная хроматография, процесс которой должен удовлетворять: высокой скорости захвата целевых белков, высокой емкости сорбента, высокой избирательности связывания, высокому выходу продукта и низкой степени денатурации или расщепления элюируемого продукта.

Проведение очистки с помощью моноклональных антител имеет ряд недостатков, таких как: высокая цена, низкая емкость и стабильность сорбента (подверженность частичной денатурации и протеолизу), ограниченная масштабируемость, нестерилизуемость. Кроме того, сорбент может загрязнять продукт чужеродными антителами, гормонами и вирусами. Использование сорбентов, в которых в качестве лигандов используются короткие химически-синтезируемые пептиды, например EYKSWEYC [1], устраняет большую часть перечисленных недостатков, однако эти лиганды подвержены протеолизу и могут загрязнять элюируемый продукт пептидами. В настоящее время для хроматографической очистки рекомбинантного фактора VIII все чаще находят применение синтетические низкомолекулярные пептидоподобные лиганды [2], которые обладают аналогичными профилями связывания.

Целью данной работы стало, используя расчетные методы: молекулярной динамики и молекулярного докинга предложить кандидатов для очистки рекомбинантного фактора VIII с лучшими характеристиками, чем уже существующие.

Была построена пространственная модель фактора VIII на основании структур, полученных с использованием данных рентгеноструктурного анализа (PDB ID: 2R7E, 3CDZ). Методом молекулярной динамики с использованием программного пакета GROMACS получена траектория (10 нс, 300 К) релаксированной молекулы фактора VIII в водном окружении. Траектория оценивается нами как эргодичная. Получена структура релаксированной молекулы фактора VIII. С полученной структурой методом молекулярного докинга с помощью программного пакета AUTODOCK проведен расчет, позволивший определить предпочтительные сайты связывания для уже описанного пептидоподобного лиганда фактора VIII, а также трех других лигандов с некоторыми отличиями в радикалах-заместителях. Оценены энергии связывания, и рассчитаны константы связывания-диссоциации комплексов лиганд-белок.

Литература

1. *Pflegerl K., Hahn R., Berger E., Jungbauer A.* Mutational analysis of a blood coagulation factor VIII-binding peptide // *Journal of Peptide Research*, том 59, номер 4, год 2002. Стр. 174-182.
2. *Knör S., Khrenov A., Laufer B., Benhida A., Grailly S.C., Schwaab R., Oldenburg J., Beaufort N., Magdolen V., Saint-Remy J.-M.R., Saenko E.L., Hauser C.A.E., Kessler H.* Efficient factor VIII affinity purification using a small synthetic ligand // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, том 6, номер 3, год 2008. Стр. 470-477.