

анализа соответствует модели специфического связывания лиганда рецептором с одним сайтом связывания.

Анализ графика позволил определить равновесную концентрацию или концентрацию цитокина, при которой степень связывания составляет $\frac{1}{2}$ от максимальной. Для связывания ИЛ-6 тетрапептидом Ser-Phe-Tyr-Arg она составила 0,8 (0,5;1,1) пмоль/мл или 17,9 (11,2;26,6) пг/мл.

В результате экспериментальной оценки было обосновано, что тетрапептид Ser-Phe-Tyr-Arg специфически связывается с ИЛ-6. Степень связывания составляет 58,8 (51,7;66,0) %.

Рябцева Т.В., Смурага Д.Д., Макаревич Д.А.
Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

СВЯЗЫВАНИЕ ОРИГИНАЛЬНОГО СИНТЕТИЧЕСКОГО ТЕТРАПЕПТИДА С ФНО- α IN VITRO

Актуальность. ФНО- α относится к цитокинам с мощной провоспалительной активностью. Гиперпродукцией данного цитокина сопровождается развитие системного воспалительного ответа и цитокинового шторма при заболеваниях инфекционной и неинфекционной природы. Летальность при данных состояниях составляет около 30%. В мире ведется постоянный поиск новых, эффективных и безопасных методов снижения концентрации ФНО- α . Одним из таких подходов может быть использование специфических олигопептидов, способных связать и тем самым ингибировать действие ФНО- α в организме человека.

Цель. Изучить в условиях эксперимента эффективности связывания ФНО- α с олигопептидом Trp-Asn-Trp-Val, являющимся аналогом полипептидной цепи рецептора TNFRSF1B.

Методы исследования. Оригинальная аминокислотная последовательность исследуемого пептида была создана на основе полипептидной цепи рецептора TNFRSF1B методом молекулярного моделирования.

Для экспериментов использовали синтетический олигопептид и рекомбинантный белок ФНО- α (Китай). Известно, что олигопептиды могут обладать высокой специфичностью и способны связываться

с молекулой-мишенью аналогично связыванию молекул с антителами, тем самым конкурируя с ними. В нашем исследовании раствор олигопептида (1 μM) и раствор рекомбинантного цитокина (в соответствующем разведении от 0,3 до 5,7 пмоль/мл) смешивали и инкубировали 2 часа при комнатной температуре. После этого определяли концентрацию цитокина методом иммуноферментного анализа. Изменение концентрации цитокина в растворе после инкубации с олигопептидом свидетельствовало о его взаимодействии с ФНО- α . Степень связывания цитокина с пептидом рассчитывали, как долю цитокина, находящегося в комплексе с пептидом, от всего внесенного количества.

Результаты и их обсуждение. Величина оптической плотности в опытной смеси, где цитокин контактирует с олигопептидом была ниже, чем в контрольной, где олигопептид отсутствовал. Снижение оптической плотности свидетельствует о снижении количества цитокина, способного к взаимодействию с детектирующими антителами из-за связывания с олигопептидами. При изменении концентрации ФНО- α в исходном растворе с 0,3 пмоль/мл до 5,7 пмоль/мл концентрация связанного с Trp-Asn-Trp-Val цитокина изменялась с 0,04 (0,02;0,07) пмоль/мл до 3,77 (3,70;3,81) пмоль/мл.

Анализ результатов эксперимента показал, что между количеством связанного с пептидом цитокина и его исходной концентрацией имеется зависимость. Зависимость степени связывания ФНО- α от его исходной концентрации описывается гиперболой. Нахождение предела данной гиперболической функции позволило определить максимальную степень связывания ФНО- α с пептидом Trp-Asn-Trp-Val.

Связывание ФНО- α с олигопептидом Trp-Asn-Trp-Val в свободной форме является специфическим с максимальной степенью связывания 65,1 (52,8;77,5) %. Полученные результаты могут быть использованы при разработке методов снижения концентрации данного цитокина в плазме крови человека при системных воспалительных заболеваниях.
