

## **РАЗРАБОТКА И КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ИНГИБИРУЮЩИХ ПЕПТИДОВ МЕМБРАННО-СВЯЗАННОГО БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА HSP70**

**Ванчугова А. К.<sup>1</sup>**

**Научный руководитель – канд. мед. наук, доцент Порозов Ю. Б.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Научно-исследовательский университет ВШЭ СПб

akpravotorkhova@edu.hse.ru

Работа выполнена в рамках темы НИР №ФИ-2025-76 «Рациональный дизайн низкомолекулярных ингибиторов PD-1 для терапии злокачественных новообразований с резистентностью к химиотерапии»

### **Введение**

Молекулярные шапероны, или белки теплового шока (HSP), в частности представители семейства HSP70, играют ключевую роль в поддержании клеточного гомеостаза и в обеспечении правильного сворачивания, транспортировки и деградации белков в клетках. Последние исследования показывают, что HSP70 может быть вовлечен в инвазию и метастазирование опухолевых клеток, а также в регуляцию подвижности нормальных клеток. Снижение уровня экспрессии HSP70 с помощью технологии shRNA приводит к уменьшению инвазивности и миграционной активности клеток колоректального рака более чем на 60%, а также к снижению подвижности клеток рака молочной железы [1]. Несмотря на многочисленные исследования влияния HSP70 на поведение опухолевых клеток, большинство работ рассматривало белок в цитозольной или ядерной формах. Однако мембранно-связанный белок HSP70 (mHSP70) может выполнять уникальные функции на поверхности клеток. В работах М. А. Шевцова [1], [2] была проведена оценка экспрессии mHSP70 в опухолях головного мозга и их метастазах, включая глиобластомы, используя метод инвертированной конфокальной микроскопии живых клеток. Обнаружено, что уровень экспрессии именно этой формы белка значительно повышен в клетках, особенно в перитуморальной зоне, где наблюдается активная миграция и инвазия.

Таким образом, HSP70 представляет собой важнейший элемент в системе регуляции опухолевого роста и инвазии. Изучение именно мембранно-связанной формы открывает новые направления в понимании механизмов метастазирования и формирования устойчивости раковых клеток к терапии, что делает этот белок ключевым объектом современных исследований в онкологии.

### **Основная часть**

Для решения задачи использовались современные методы молекулярного моделирования и анализа белково-пептидных взаимодействий, используя программное обеспечение Schrödinger Maestro (версии 2023-2 и 2024-4 trials). Поскольку структура человеческого белка HSP70 (HSPA1A) отсутствует в PDB, было проведено моделирование с использованием алгоритма AlphaFold с последующими тестами на качество предсказанной структуры. Целью исследования было изучение именно мембранно-ассоциативной формы белка, поэтому на первом этапе была проведена серия молекулярных динамик, направленных на определение положения белка в мембране. Известно, что HSP70 может находиться в мембране в двух альтернативных формах: при погружении нуклеотид-связывающего домена (NBD) или субстрат-связывающего домена (SBD) в липидный слой [3]. В связи с этим были проведены две независимые молекулярные динамики в модели растворителя TIP3P, моделирующие оба случая ориентации белка.

Следующим этапом стало выявление потенциальных сайтов связывания пептидов на поверхности HSP70. Для этого в каждой из полученных ориентаций белка были построены поисковые сетки (grid boxes), охватывающие участки того домена, который находится над мембраной и является доступным для взаимодействия с пептидами. После идентификации участков связывания были выполнены дизайн и тестирование пептидных лигандов. В качестве исходного шаблона использовался пептид NRLLLTG, ранее описанный как потенциальный лиганд для HSP70 *E. coli* [4].

Дальнейшим шагом было использование метода residue scanning, который выполняет виртуальный мутагенез и последующее компьютерное тестирование мутированной последовательности на аффинность и стабильность. На каждом шаге моделировались мутации (замены) аминокислот и вычислялись изменения энергии связывания относительно исходного пептида NRLLLTG. Полученные мутированные пептиды с улучшенными характеристиками аффинности и стабильности повторно подвергались молекулярному пептидному докингу и повторной динамике для проверки их взаимодействия.

### Выводы

Докинг исходного пептида NRLLLTG показал умеренную стабильность связывания с обоими доменами, но NBD домен продемонстрировал более устойчивое взаимодействие (docking score -9,632 ккал/моль) по сравнению с SBD (docking score -8,281 ккал/моль). Оптимизация последовательности аминокислотных остатков с учетом положительно заряженных и ароматических аминокислот привело к улучшению связывания (в качестве примера были подробно рассмотрены пептиды WRRRRRG с результатом -10,413 ккал/моль и NRRYRRG с результатом -8,506 ккал/моль). Эти улучшения объясняются формированием расширенной сети водородных связей с ключевыми остатками белка (в частности, Asp, Glu, Tyr и Arg), что обеспечивает прочное связывание пептида с белком. В настоящее время проводится синтез предложенных пептидов с целью последующих *in vitro* экспериментов.

### Литература

1. Shevtsov M., Bobkov D., Yudin tceva N. [и др.] Membrane-bound heat shock protein mhsp70 is required for migration and invasion of brain tumors // *Cancer Research Communications*. 2024. Vol. 4, no. 8. P. 2025–2044. <https://doi.org/10.1158/2767-9764.crc-24-0094>.
2. Shevtsov M., Balogi Z., Khachatryan W. [и др.] Membrane-associated heat shock proteins in oncology: From basic research to new theranostic targets // *Cells*. 2020. Vol. 9, no. 5. P. 1263. <https://doi.org/10.3390/cells9051263>.
3. Mahalka A. K., Kirkegaard T., Jukola L. T. [и др.] Human heat shock protein 70 (hsp70) as a peripheral membrane protein // *Biochimica et Biophysica Acta*. 2014. Vol. 1838, no. 5. P. 1344–1361. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.01.022>
4. Clerico E. M., Tilitsky J. M., Meng W., Gierasch L. M. How hsp70 molecular machines interact with their substrates to mediate diverse physiological functions // *Journal of Molecular Biology*. 2015. Vol. 427, no. 7. P. 1575–1588. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.02.004>.