

Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

Пути и механизмы ингибирования тромбина Залевский А.О.¹, Решетников Р.В.², Завьялова Е.Г.³

1 - Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, 2 - Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, 3 - Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия
E-mail: aozalevsky@gmail.com

Тромбозы являются основной причиной смертности при таких сердечно-сосудистых заболеваниях, как инфаркт миокарда и инсульт[1]. Для профилактики и лечения тромбозов применяются антикоагулянты. Они действуют на элементы каскада свертывания крови, ключевой среди которых - тромбин, сериновая протеаза. Существующие антикоагулянты обладают широким спектром побочных эффектов, что порождает необходимость детального изучения ингибиторов тромбина для разработки способов их рационального улучшения.

В крови тромбин присутствует в двух формах: активной «быстрой» и неактивной «медленной». Переход между формами регулируется связыванием с катионом натрия[2]. Взаимодействие с субстратом и лигандами происходит по трем областям, которые можно выделить на поверхности глобулы фермента[2]. Это фибриноген-связывающий сайт (экзосайт I), гепарин-связывающий сайт (экзосайт II) и активный центр.

Ингибирование тромбина по активному центру хорошо изучено и заключается в ограничении доступа субстрата[2].

Существуют также эффективные ингибиторы, связывающиеся с тромбином по двум экзосайтам[3, 4]. Механизм их действия не ясен, так как непосредственно с активным центром они не взаимодействуют.

В настоящей работе методами моделирования молекулярной динамики исследовали системы, состоящие из тромбина в «быстрой» и «медленной» формах, и комплексов тромбина с ингибиторами, связывающимися с ним по экзосайту I (ДНК-аптамер 15-ТВА, гируген) и экзосайту II (РНК-аптамер ТОG25). Результаты моделирования проверяли с помощью экспериментов по определению кинетики стационарного состояния реакции расщепления тромбином хромогенного субстрата S-2238 в присутствии рассматриваемых ингибиторов. Поведение «быстрой» и «медленной» форм тромбина изучали добавляя в систему, соответственно, катионы натрия и холинхлорида.

Экспериментальные данные подтверждают результаты моделирования. Ингибирование носит аллостерический характер, и его механизм различается в зависимости от сайта связывания агента. Ингибиторы по экзосайту I воздействуют на ключевые остатки, определяющие разницу между «медленной» и «быстрой» формой. Так 15-ТВА фиксирует фермент в неактивной конформации, препятствуя переходу тромбина в «быструю» форму. ТОG-25 же, незначительно понижает амплитуду движений петель белка, не препятствуя переходу тромбина в «быструю» форму.

Полученные результаты проясняют особенности взаимодействия тромбина с различными ингибиторами, что будет способствовать разработке антикоагулянтов следующего

поколения, обладающих высокой специфичностью, эффективностью и минимизированными побочными эффектами.

Литература

1. B. J. Hunt, Awareness and politics of venous thromboembolism in the United kingdom // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 28, 398 (2008).
2. E. Di Cera, Thrombin // *Mol. Aspects Med* 29, 203 (2008).
3. L.C. Bock et al., Selection of single-stranded DNA molecules that bind and inhibit human thrombin // *Nature* 355, 564 (1992)
4. S.B. Long et al., Crystal structure of an RNA aptamer bound to thrombin // *RNA* 14(12), 2504 (2008)

Слова благодарности

Авторы выражают благодарность администрации Лаборатории параллельных информационных технологий НИВЦ МГУ, в распоряжении которой находятся суперкомпьютеры СКИФ МГУ “Чебышев” и “Ломоносов”, на которых проводилось моделирование.