



"Подходы комбинаторной химии и биологии в создании новых биокатализаторов"

Александр Габибов

Заседание Президиума РАН
31 января 2023 года

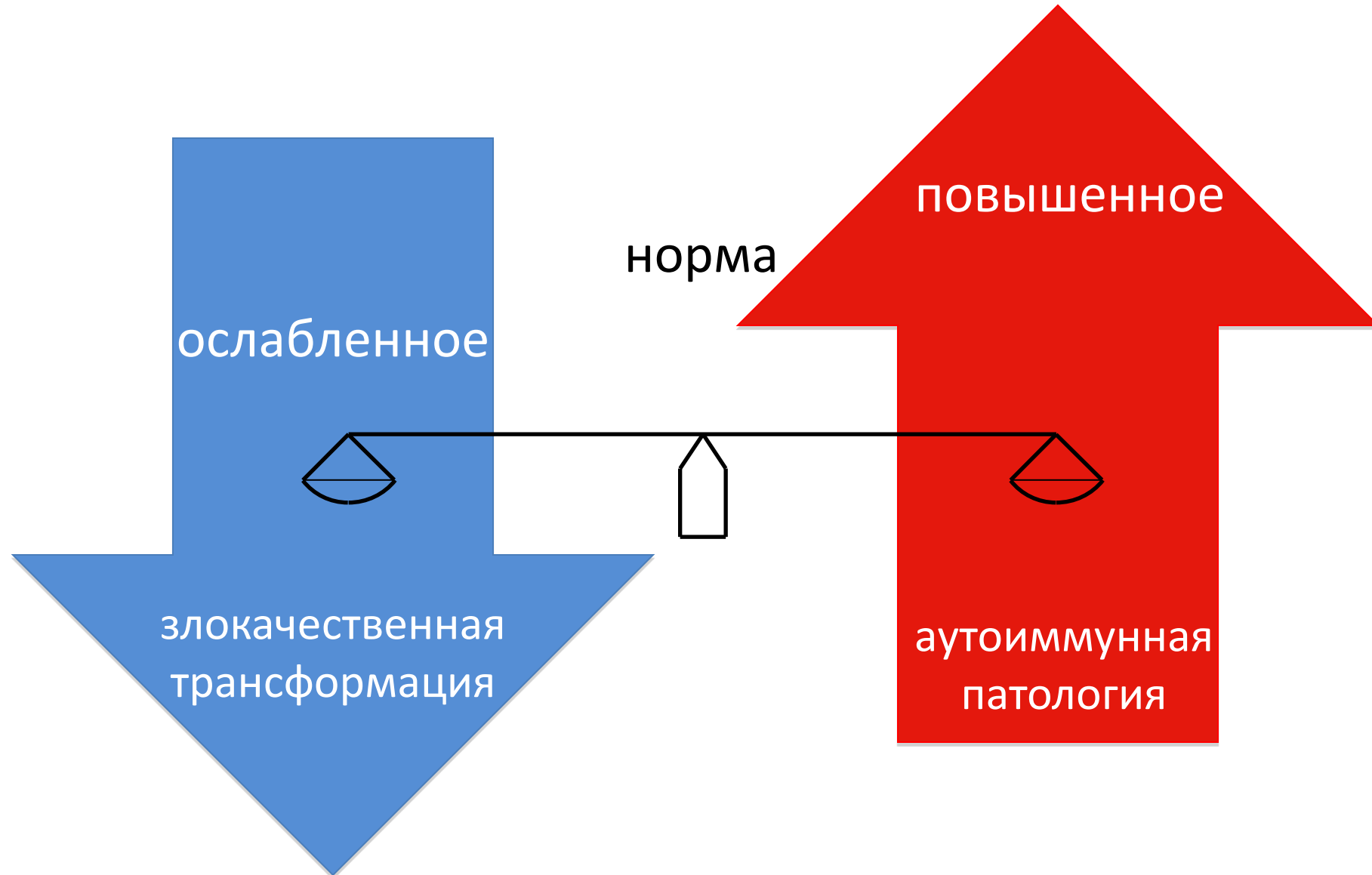


Комбинаторная химия и биология – визитная карточка XXI века

ЭРА БОЛЬШИХ ДАННЫХ

- КАК СОЗДАВАТЬ РАСШИРЕННЫЙ РЕПЕРТУАР С НОВЫМИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ ВОЗМОЖНОСТЯМИ
- КАК ПРОХОДИТ СКРИНИНГ СУЩЕСТВУЮЩИХ ОГРОМНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ РЕПЕРТУАРОВ С ТРЕБУЕМЫМИ СВОЙСТВАМИ

Главная функция иммунной системы – распознавание «свой-чужой»



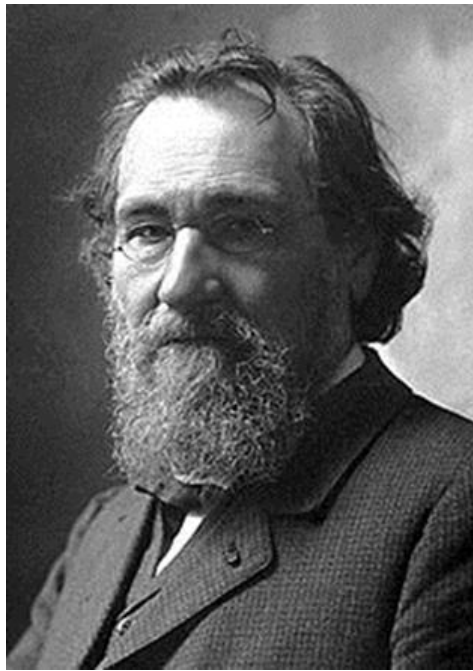


Иммунная система – главный защитник организма.

Как мы можем использовать принципы и механизмы иммунной системы для улучшения защиты, используя комбинаторную химию и биологию?

Нобелевская премия 1908 г. по физиологии или медицине

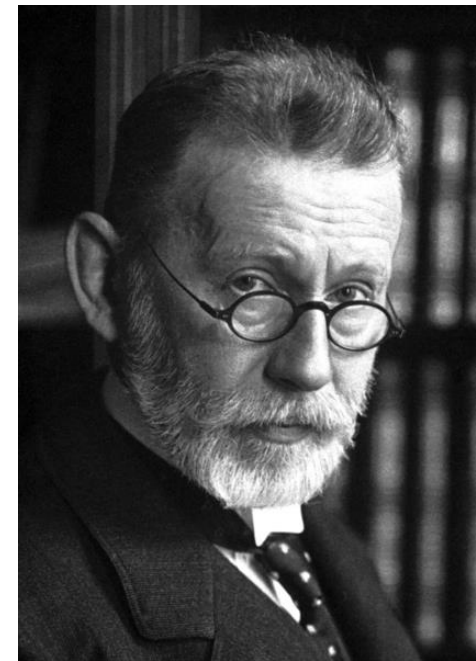
Илья Мечников
1845-1916



Открыл макрофаги в 1882 г. дедушка
современного врожденного иммунитета



Пауль Эрлих
1854-1915



Дедушка современной гематологии, иммунологии,
химиотерапии и фармакологии.

Луи Пастер

1908г. Нобелевская премия в области физиологии и медицины



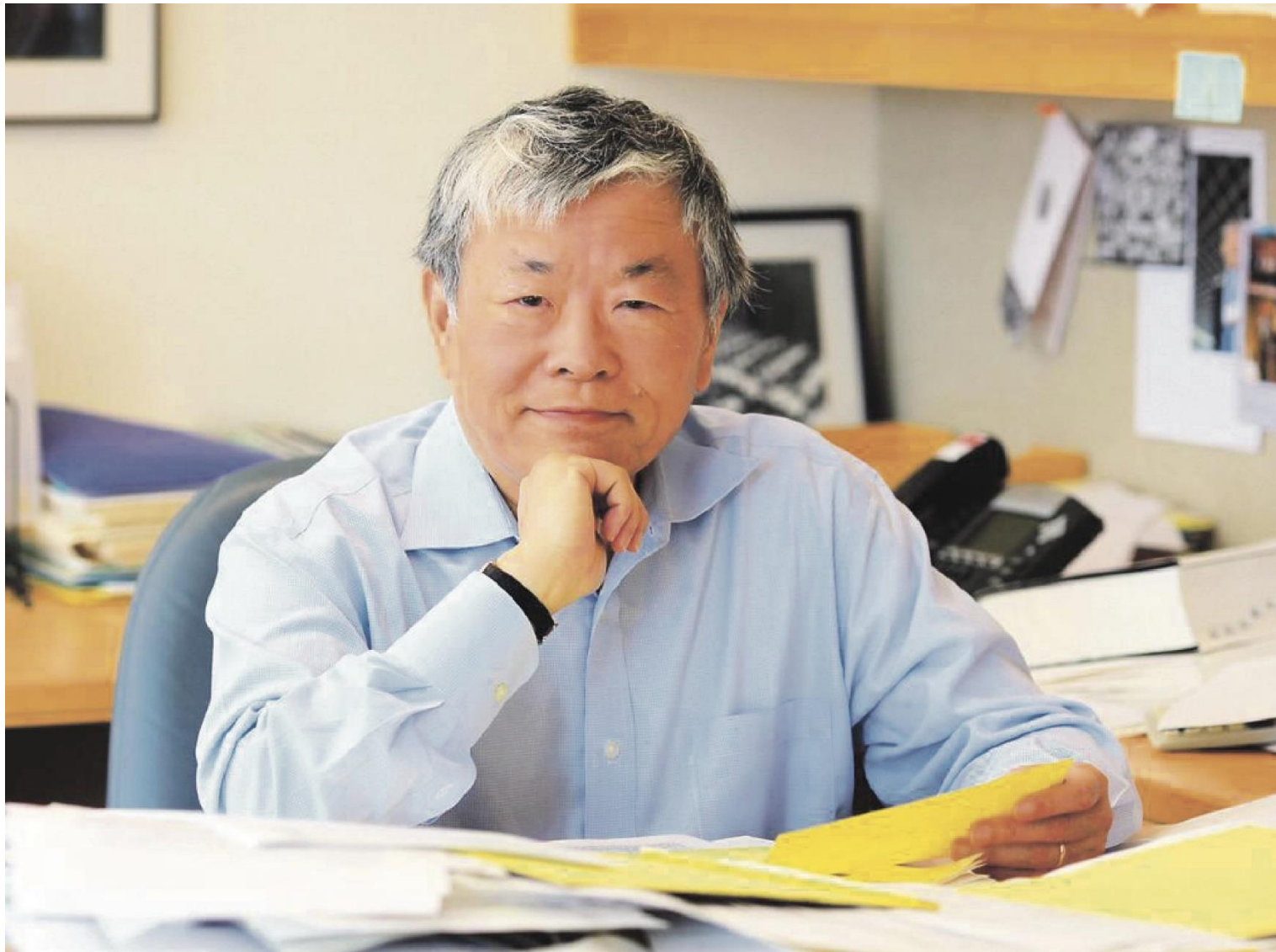
27.12.1822, — 28 .09. 1895

Эмиль Беринг

1901 г. Нобелевская премия в области физиологии и медицины



15.03.1854— 31.03.1917



Сусуму Тонегава
Нобелевская премия 1987

Что могут делать антитела?

- связывать антиген/патоген
- разрушать



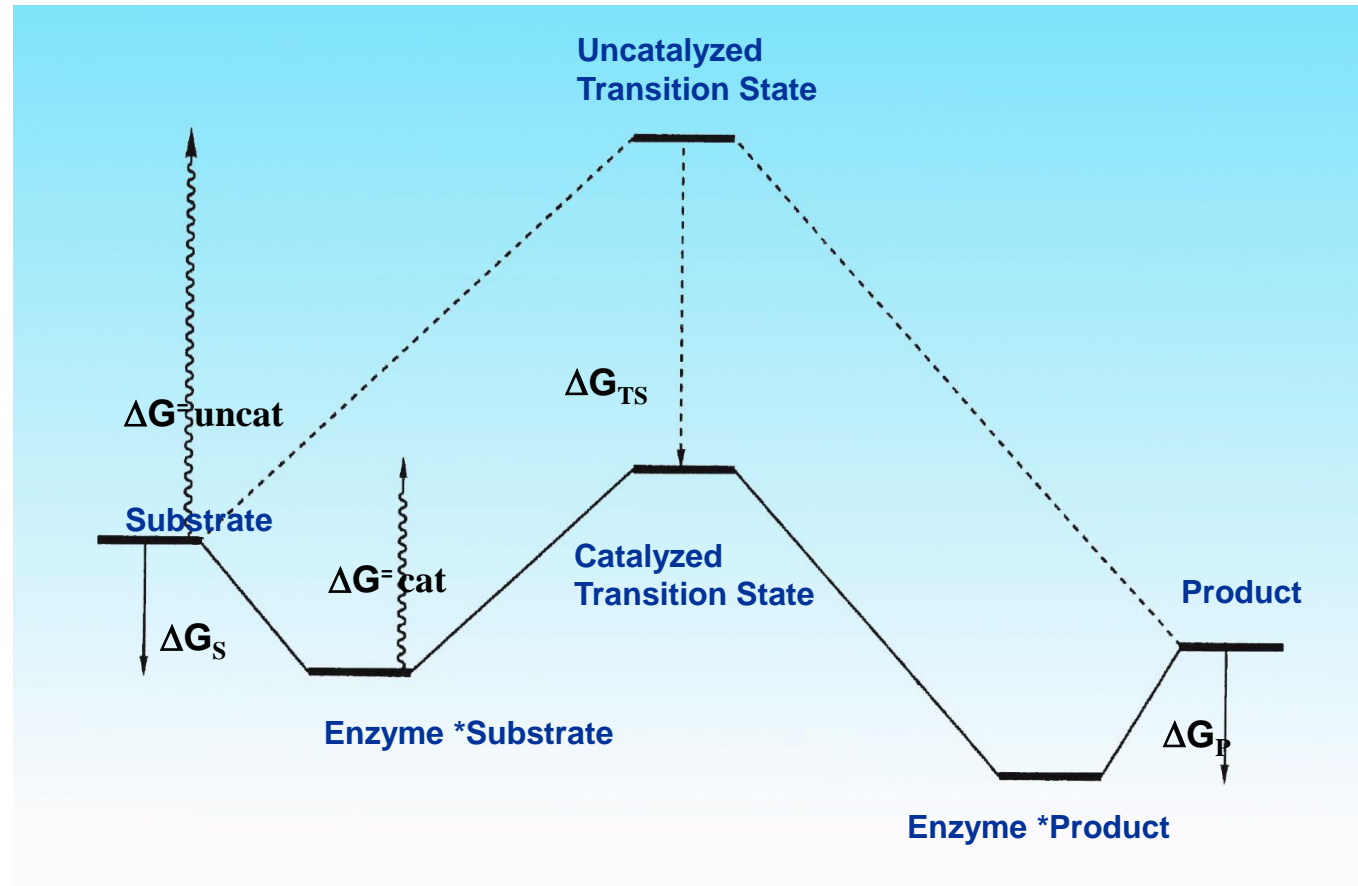
28.02. 1901 – 19.08.1994

Лайнус Полинг

Нобелевская премия по химии 1954,

Нобелевская премия мира 1962

Теория переходного состояния



$$\Delta G^{\ddagger}_{\text{uncat}} - \Delta G^{\ddagger}_{\text{cat}} = \Delta G_{\text{TS}} - \Delta G_S$$

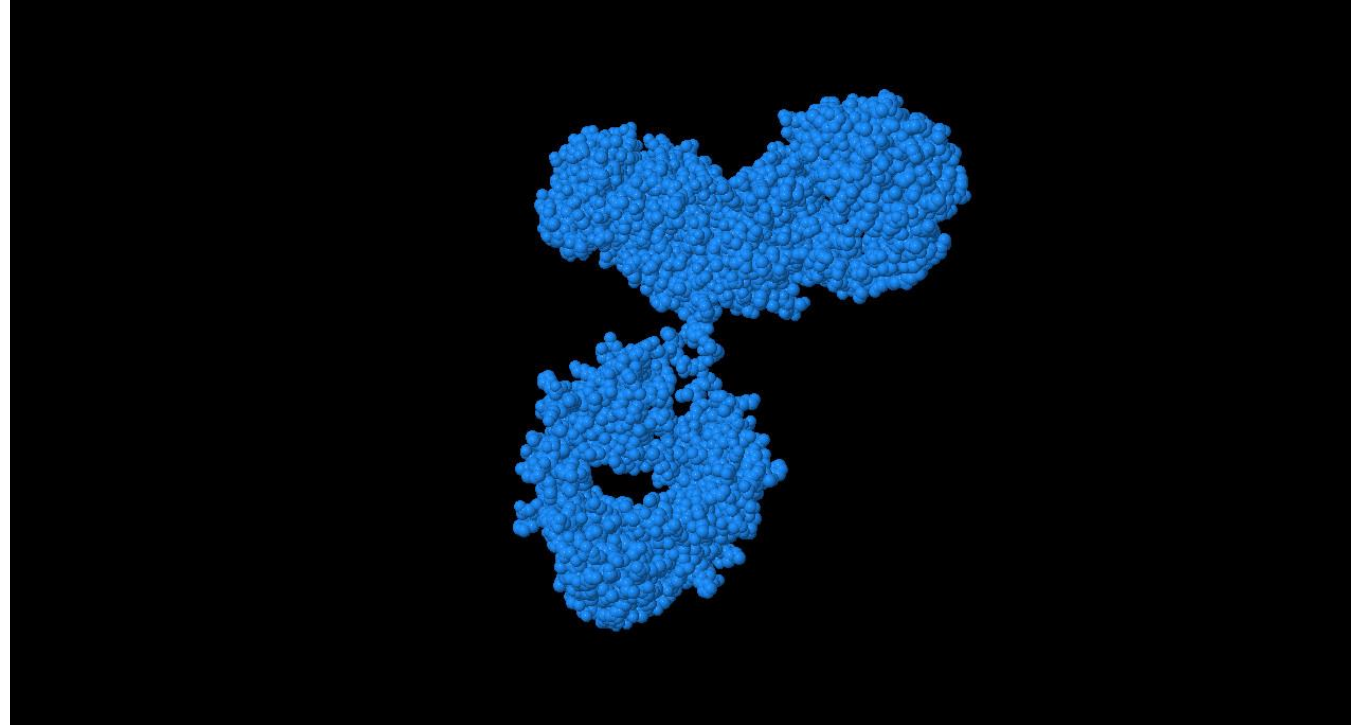
$$\text{or } k_{\text{cat}}/k_{\text{uncat}} = K_M/K_i$$



Уильям Дженкс

15 августа 1927 — 3 января 2007

Каталитические антитела (Abzymes)



AntiBodies

ENzymes

ABzymes

Нобелевская премия 1984 г. «за теорию специфичности развития и контроля иммунной системы и открытие принципа образования моноклональных антител».

Сезар Мильштейн
1927-2002



Джордж Келер
1946-1995





Майкл Блекберн и Ричард Лернер

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
 Vol. 92, pp. 2145–2149, March 1995
 Immunology

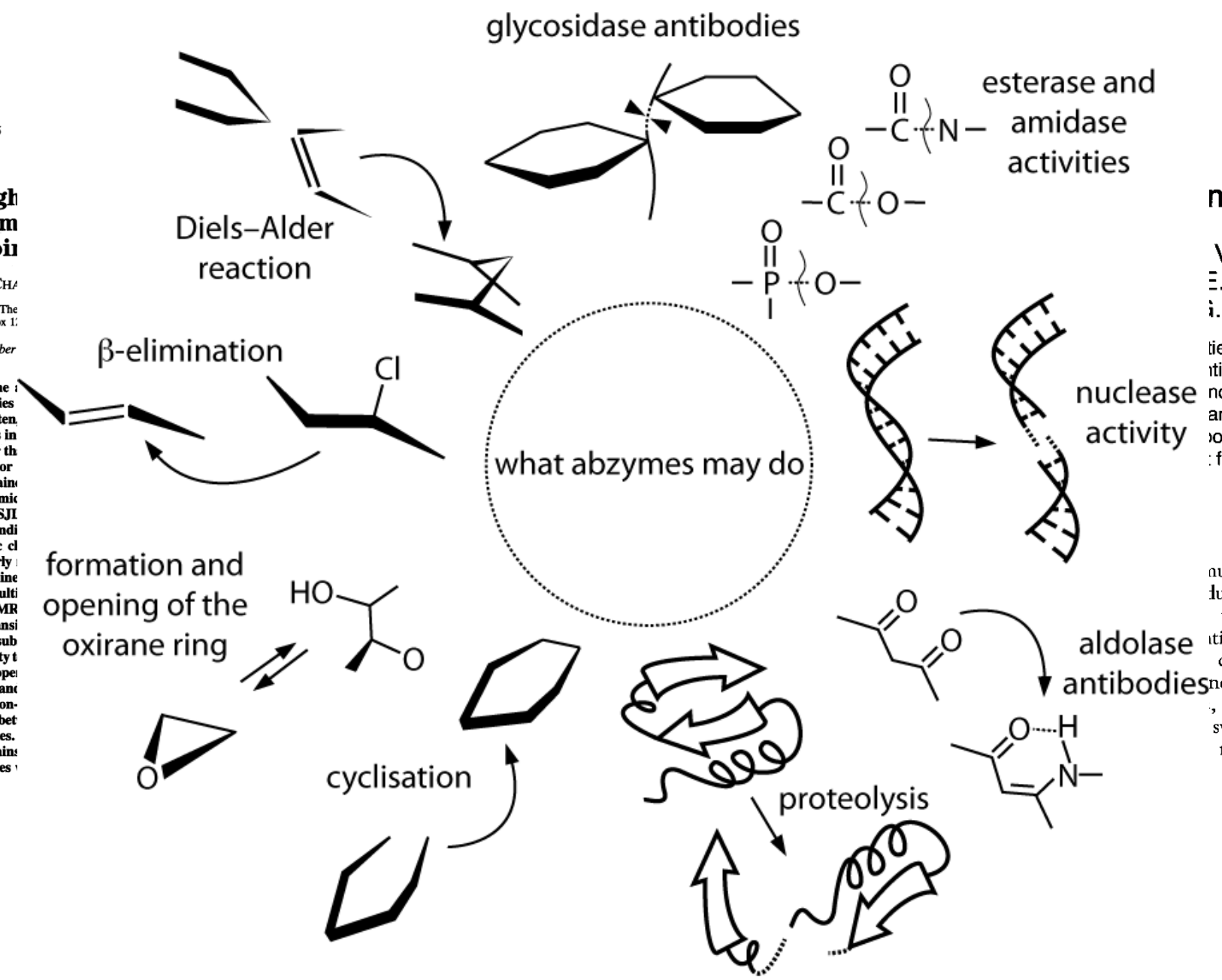
Unexpectedly high and SJL mice immune linkage to autoimmunity

DAN S. TAWFIK*†, RACHEL CHAI

*Department of Chemical Immunology, The University, Faculty of Medicine, P.O. Box 1.

Contributed by Michael Sela, November

ABSTRACT Upon testing the mice to elicit esterolytic antibodies *p*-nitrobenzyl phosphonate hapten, occurrence of catalytic antibodies in mune mice is dramatically higher than (e.g., the wild-type MRL/++ or catalytic clones are usually obtained lymphocytes taken from normal mice catalytic clones are obtained in SJL mice in the numbers of hapten-binding sites the high occurrences of catalytic clones phenomenon prevailed in the early MRL/*lpr* mice a significant decline catalytic clones was observed after multiple lytic antibodies were not found in MRL haptens that do not mimic the transition of the ester substrate (e.g., with a substrate antibodies manifest high specificity in their binding and catalytic properties prone mice may greatly expand clones elicited against a transition-intriguing is the possible linkage between appearance of catalytic antibodies. there is normally a selection against variable genes encoding antibodies



antibodies

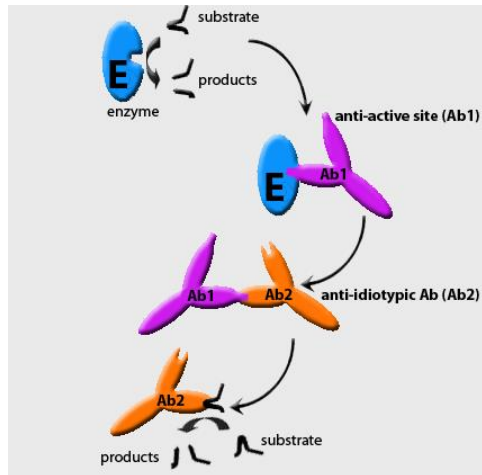
V. Gololobov,
 E. Bogomolova,
 I. Gabibov*

patients with various autoimmune antibodies. The DNA hydrolyzing nucleic acid liquid chromatography, correlation and had a positive response to antibodies were stable to acid shock from that of deoxyribonuclease

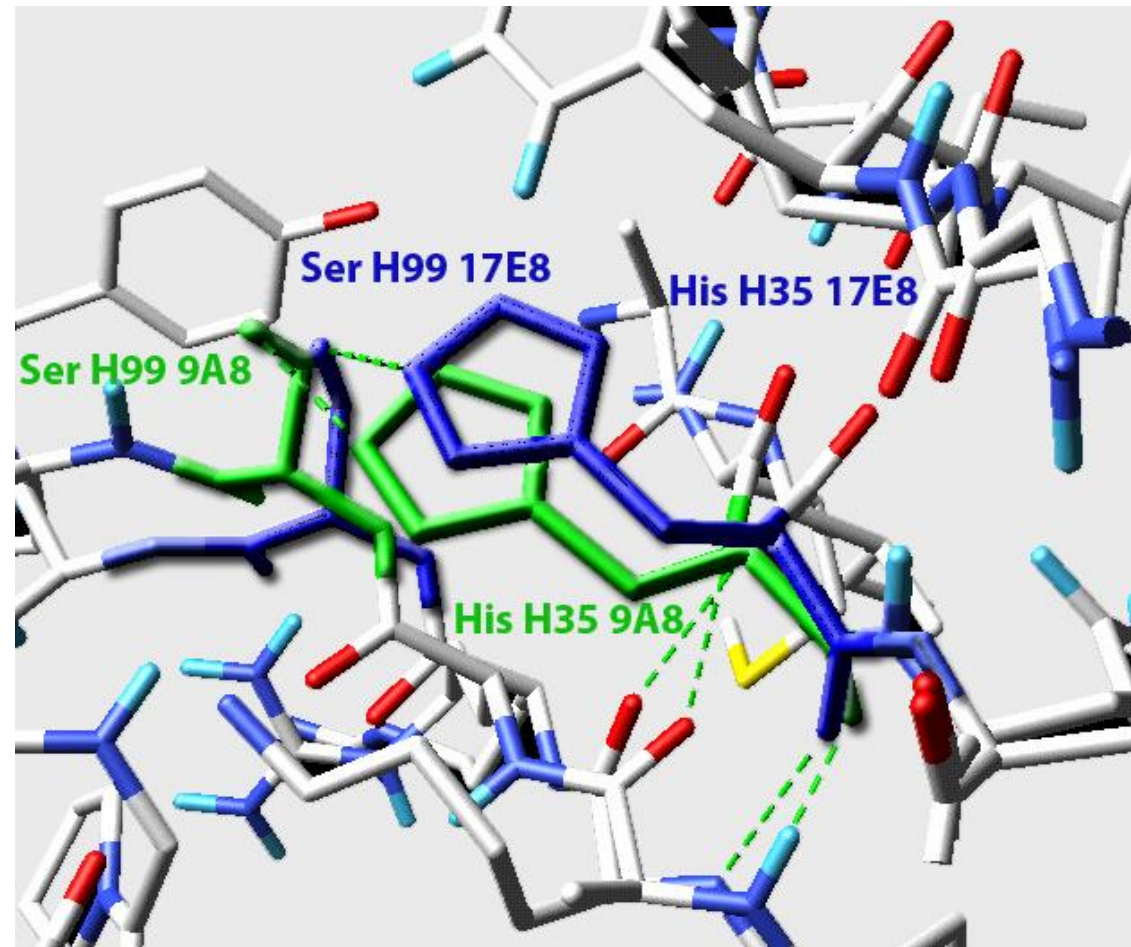
immune diseases, there can be spontaneous production of anti-idiotypic antibodies which are Abs elicited by an antigen. These anti-idiotypic Abs have characteristics of the primary antibodies including catalytic activity. In the sera of patients with scleroderma, systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis have an



Майкл Села



Трехмерная структура активного сайта антиидиотипического антитела 9A8



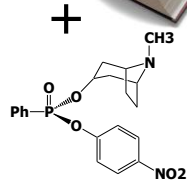
- Наложение активных центров эстеразных абзимов 9A8 (зеленый) и 17E8 (синий).
- Указаны диады Ser99 - His35.
- Водородные связи обозначены пунктирными линиями

Антиидиотипическое антитело к активному центру ацетилхолинэстеразы обладает способностью ковалентно связывать фосфорорганические яды

Ковалентная селекция молекулы reactibody против фосфорорганических нервно-паралитических агентов



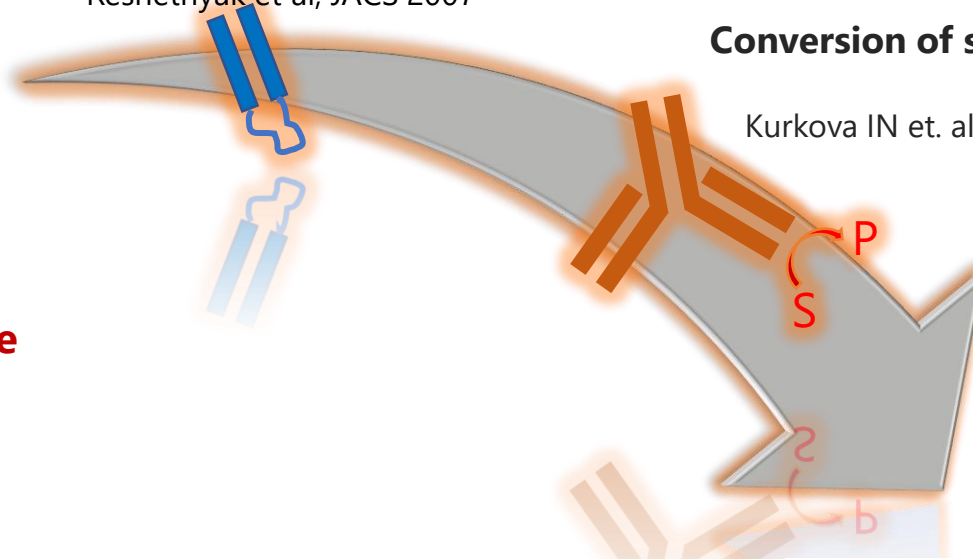
Griffin.1 scFv library



X-phosphonate

Phage-display screening.

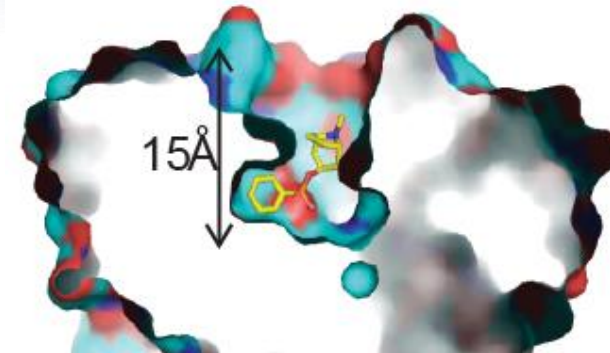
Reshetnyak et al, JACS 2007



Conversion of scFv antibodies into full-size antibody

Kurkova IN et. al. Dokl Biochem Biophys. 2009.

Crystallization and structural

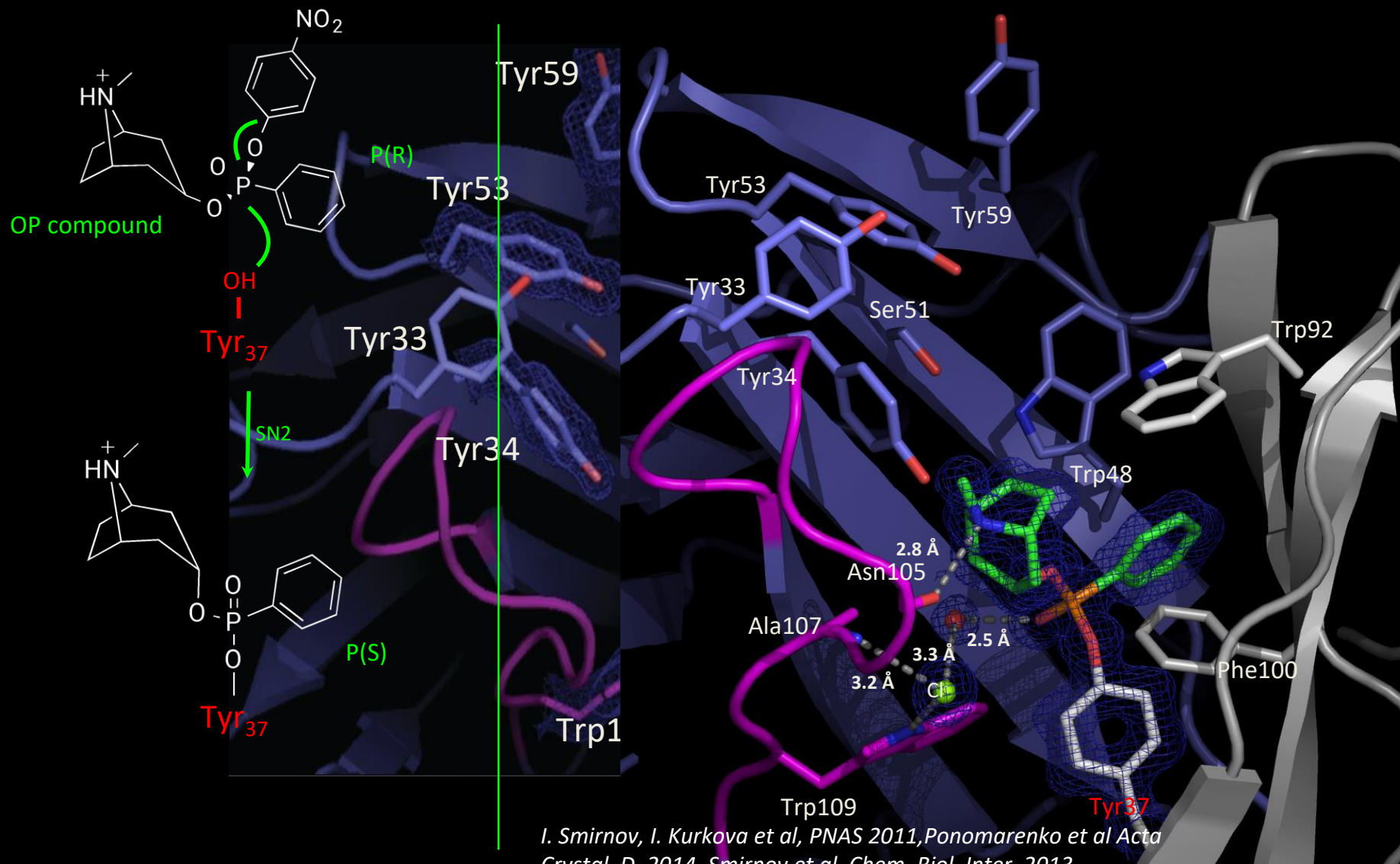


Reactibody A17 образует ферментоподобный активный центр с глубокой полостью и нуклеофильным остатком тирозина на дне кармана

A.17 antibody has unusual deep cavity with nucleophilic tyrosine at its base



Пред-существующий примитивный активный центр антитела A.17 стереоселективно взаимодействует с P(R)-изомером молекулы фосфоната.

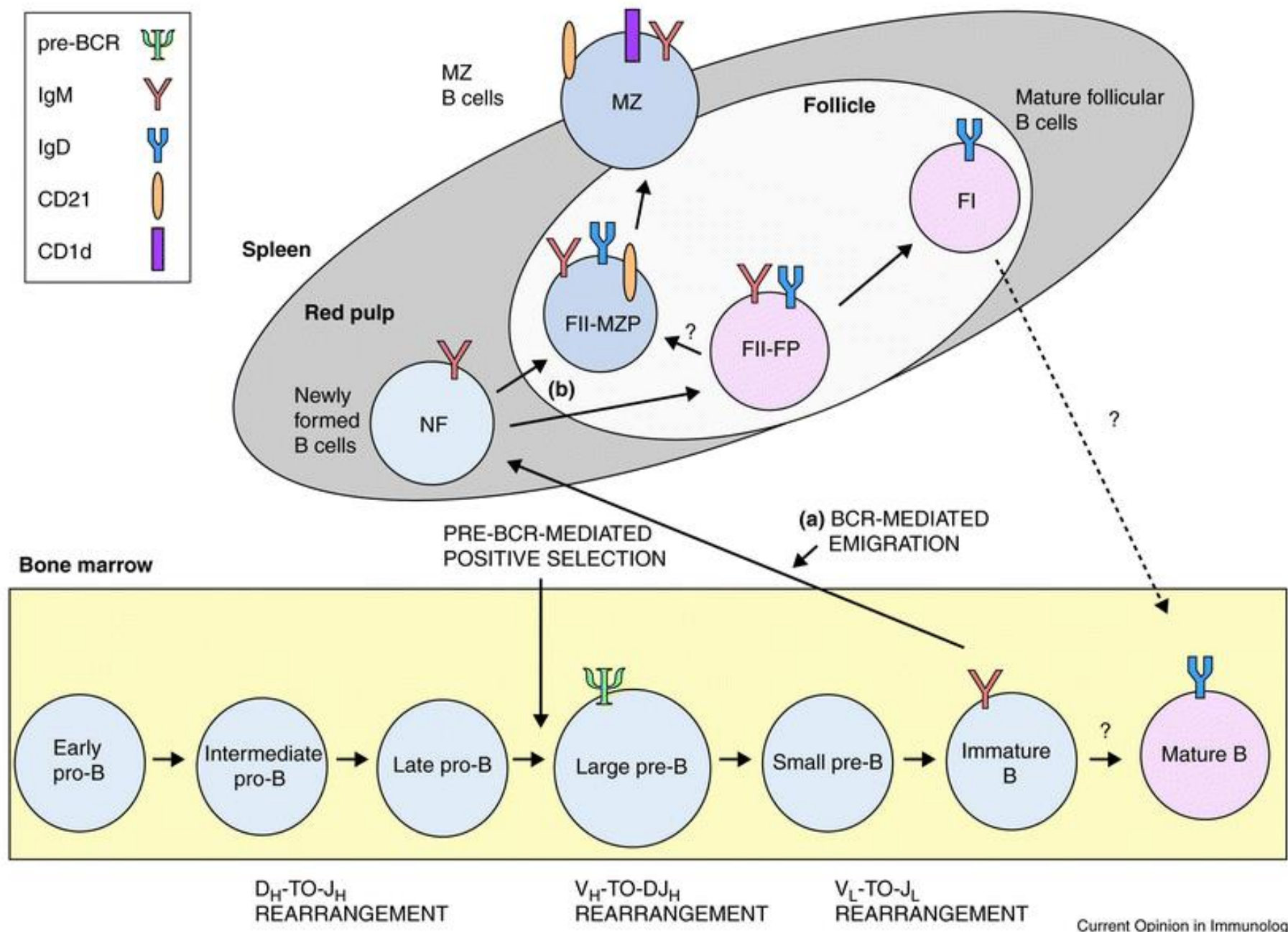


I. Smirnov, I. Kurkova et al, PNAS 2011, Ponomarenko et al Acta Crystal. D, 2014, Smirnov et al. Chem. Biol. Inter. 2013.

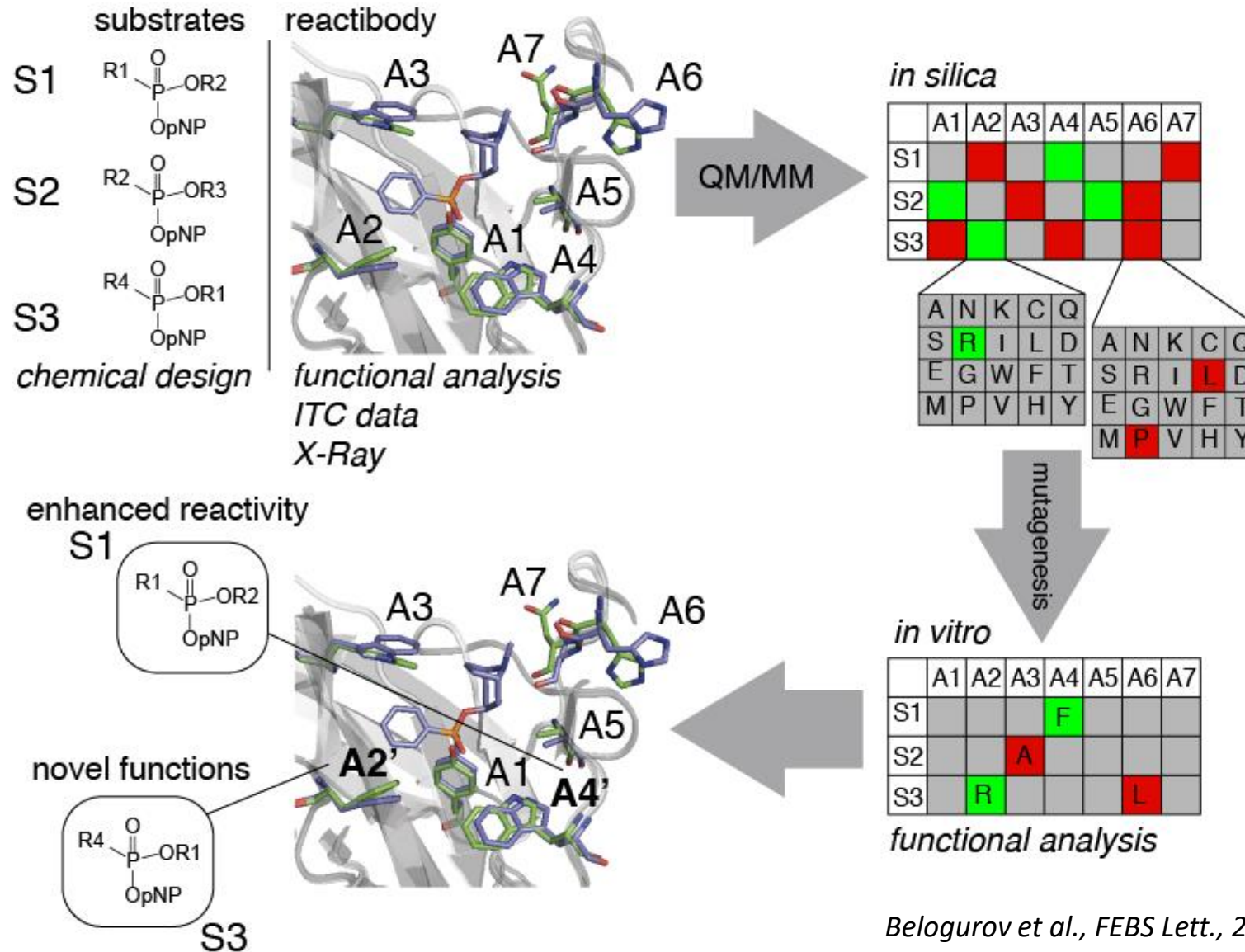
ПРОБЛЕМА:

*Ограниченная возможность
ускорить реакции путем
имитации уникального
переходного состояния для
создания активного центра.*

СОЗРЕВАНИЕ АНТИТЕЛ *IN SILICO*



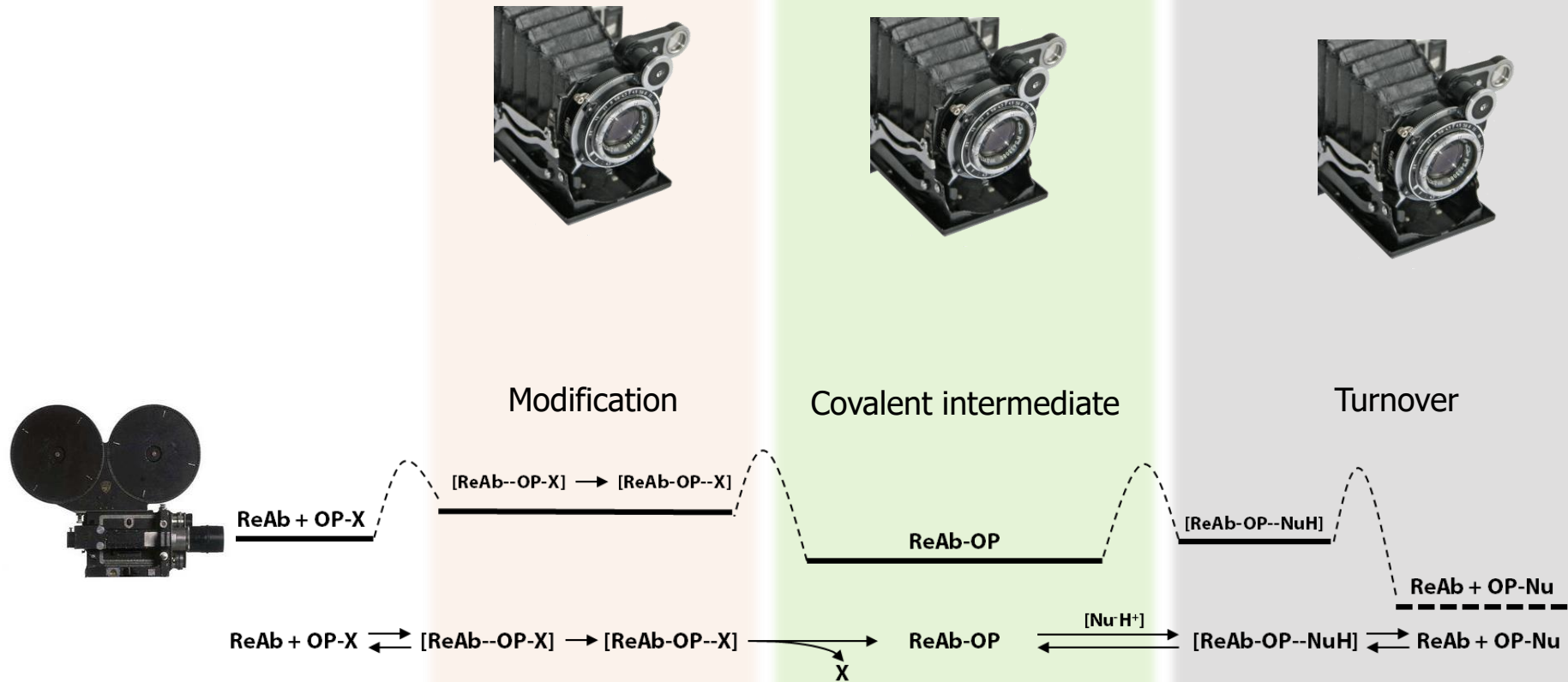
Направленная эволюция новых биокатализаторов



ПРИМЕНЕНИЕ QM/MM:

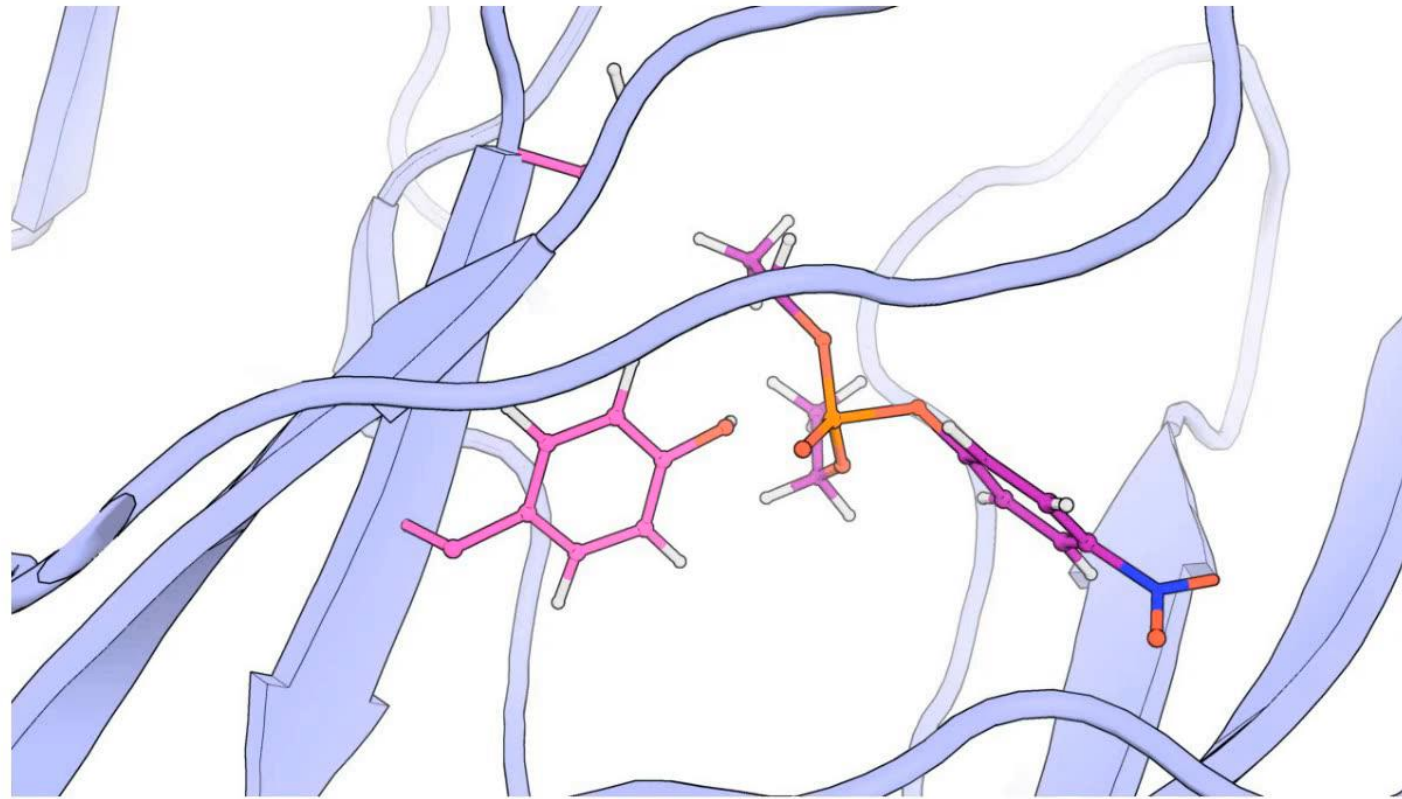
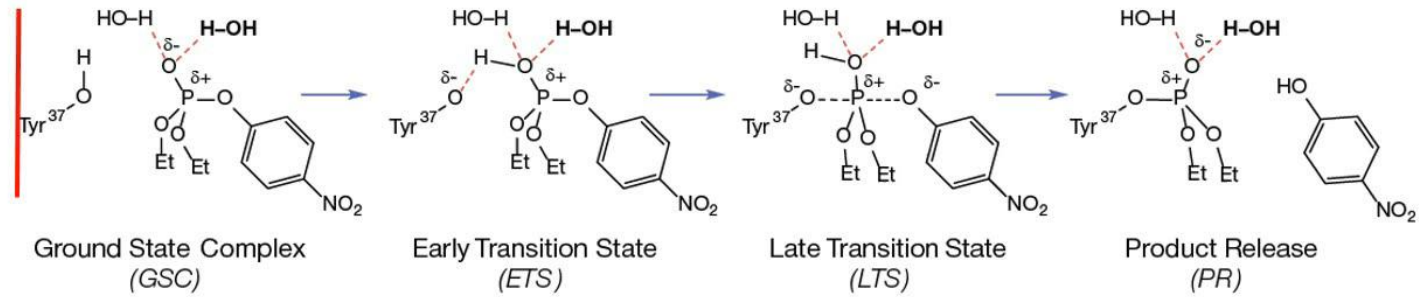
Расширенные возможности для имитации нескольких переходных состояний и выбора оптимальной ориентации матрицы и продукта.

Комбинация инструментальных и вычислительных методов может рассматриваться как эффективная стратегия получения искусственных биокатализаторов de novo.



Hybrid QM/MM
and MD
approach

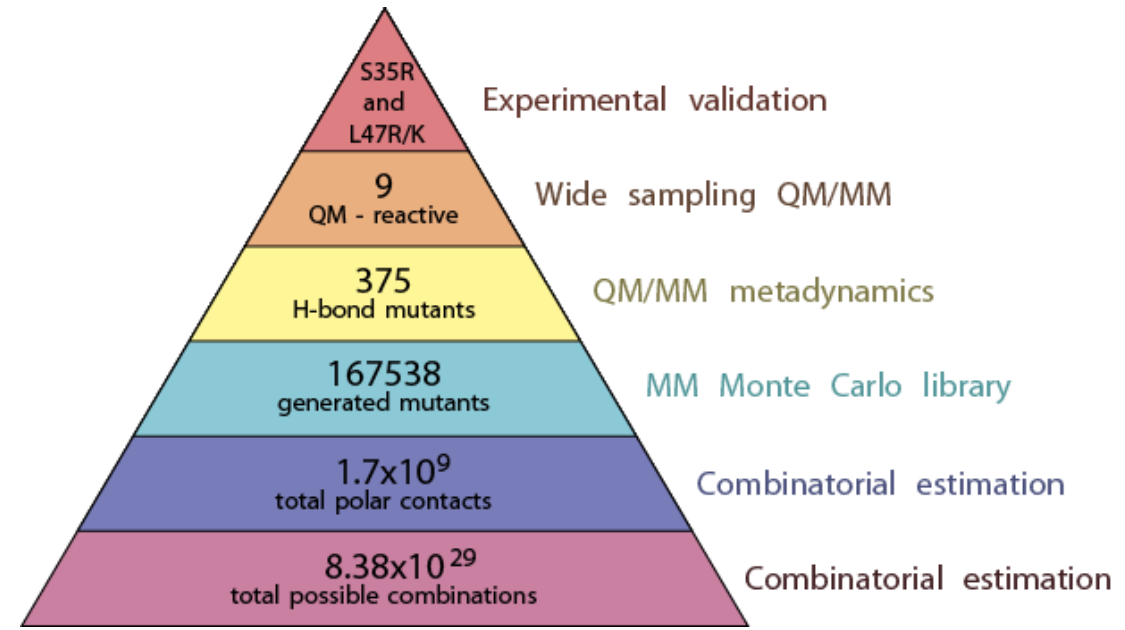
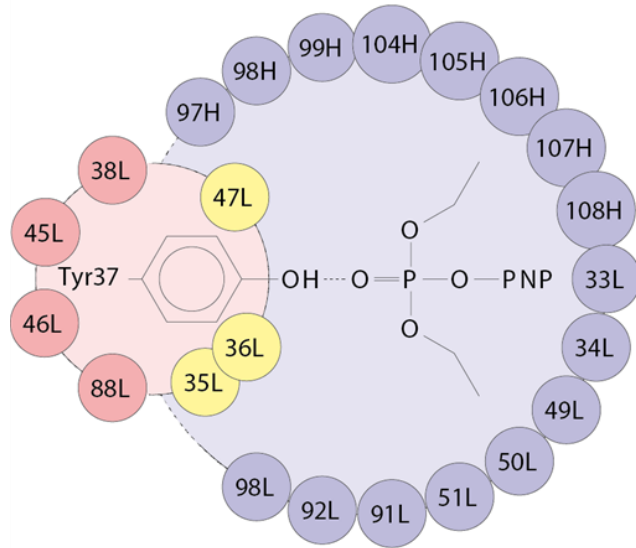
Механизм гидролиза параоксона Ig-параоксидазой.



The QM computed mechanism of TS development for step 1 of WTlgP reaction with paraoxon; the classic $S_N2(P)$ mechanism with tbp geometry is initiated by early proton transfer followed in 5-20 fs by late TS O-P bond formation.

The *in silico* maturation scheme

Мы отобрали 23 аминокислоты, которые при мутации в Arg могли образовывать Н-связь ($\leq 3,2 \text{ \AA}$) с фосфатным фрагментом параоксона.



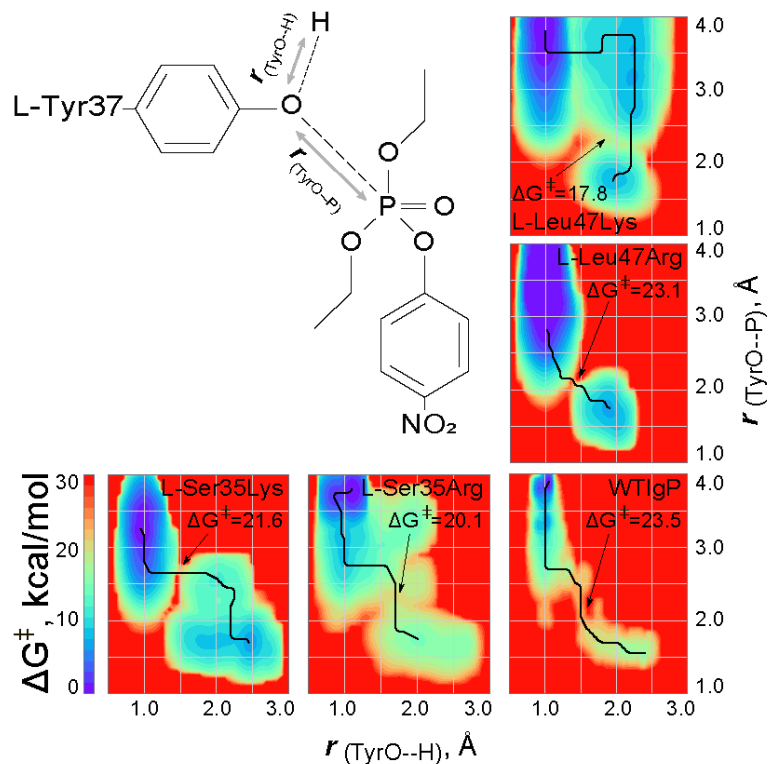
Этапы рационального ограничения размера библиотеки:

Ограничение до 11 полярных остатков и ограничение перестановок до четырех за раз
Программирование 7 аминокислот-доноров Н-связи (Arg, His, Lys, Ser, Thr, Trp, Tyr) и 3 мутаций Glu, Asp и Ser для обеспечения общего кислотно-щелочного катализа Tyr37

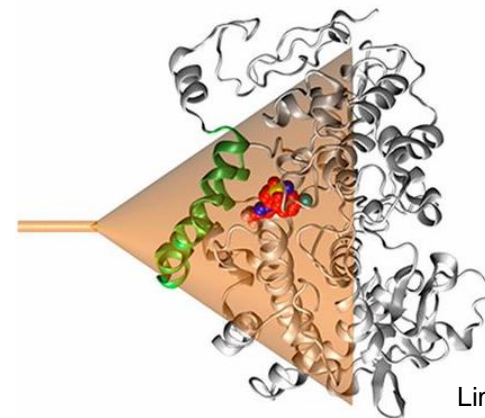
Расчеты QM/MM показали: системы с мутацией анионной аминокислоты не давали ковалентной реакции
наилучшие успешные запуски были получены с Arg, Lys и His в положениях 35, 47 легкой цепи

Синергия QM/MM и метадинамики позволяет генерировать каталитические варианты антител с высокой реактивностью и стереоспецифичностью.

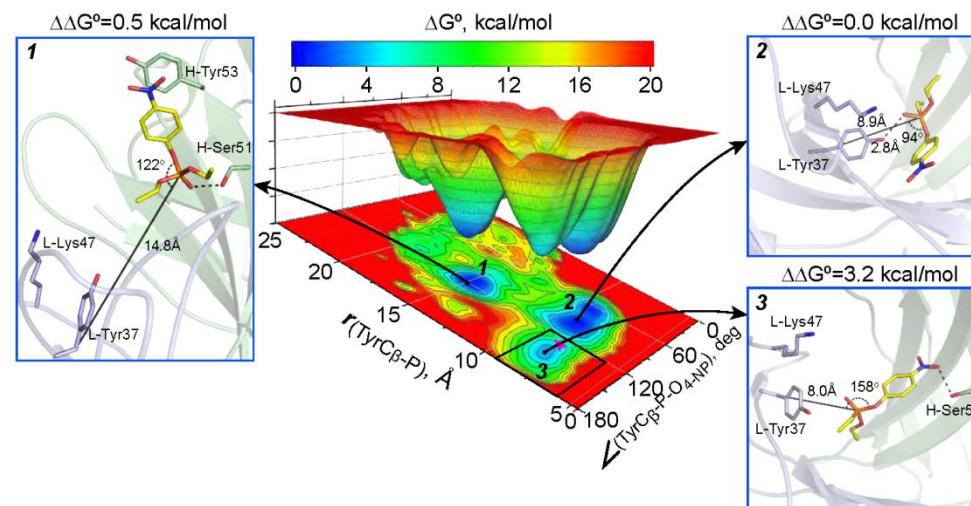
QMMM



Funnel metadynamics

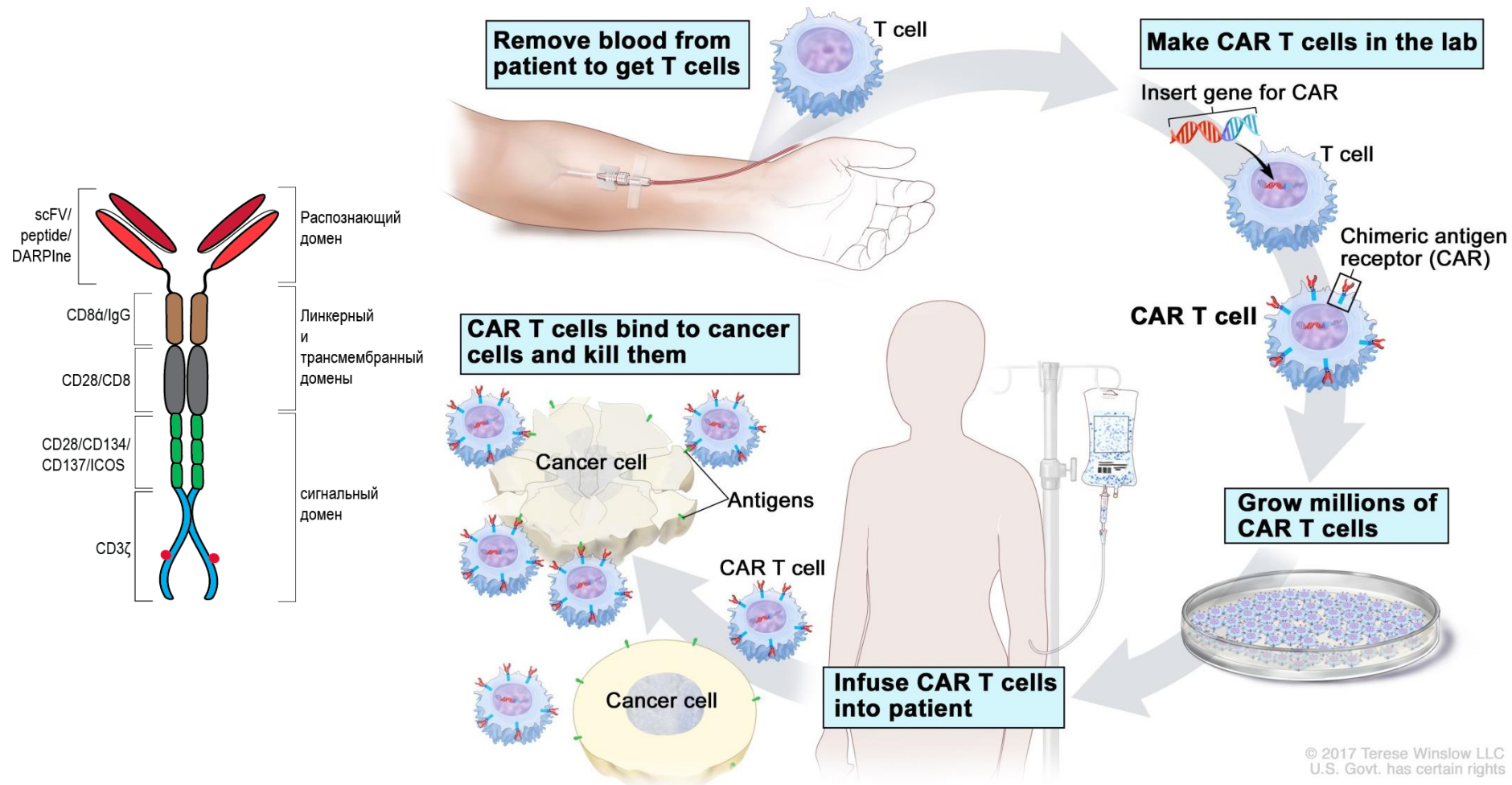


Limongelli et al., PNAS 2013



Mokrushina et al., PNAS 2020

CAR T клеточная терапия



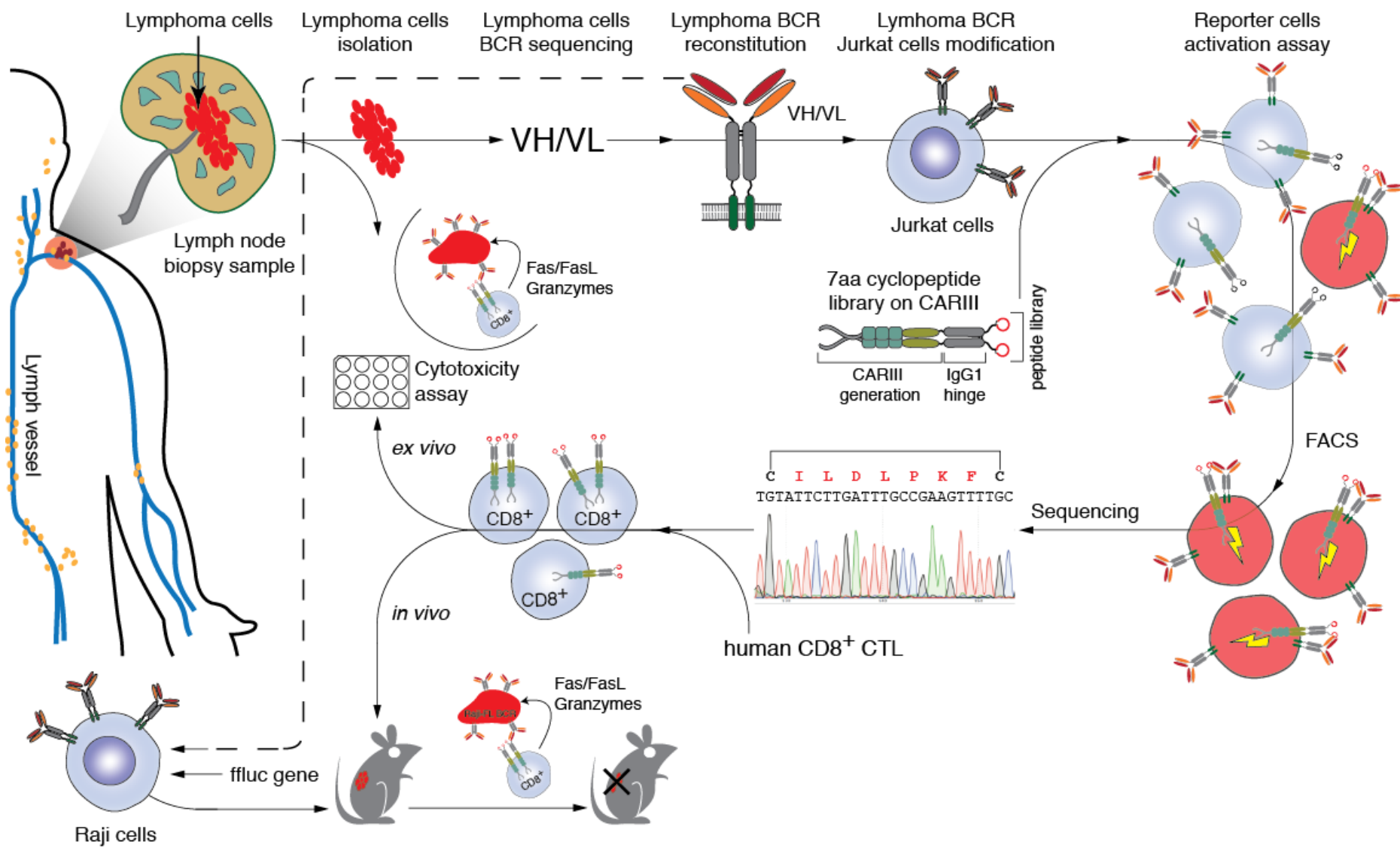
MESSAGE

Комбинаторная селекция пептидных антигенов для создания новых подходов CAR- терапии

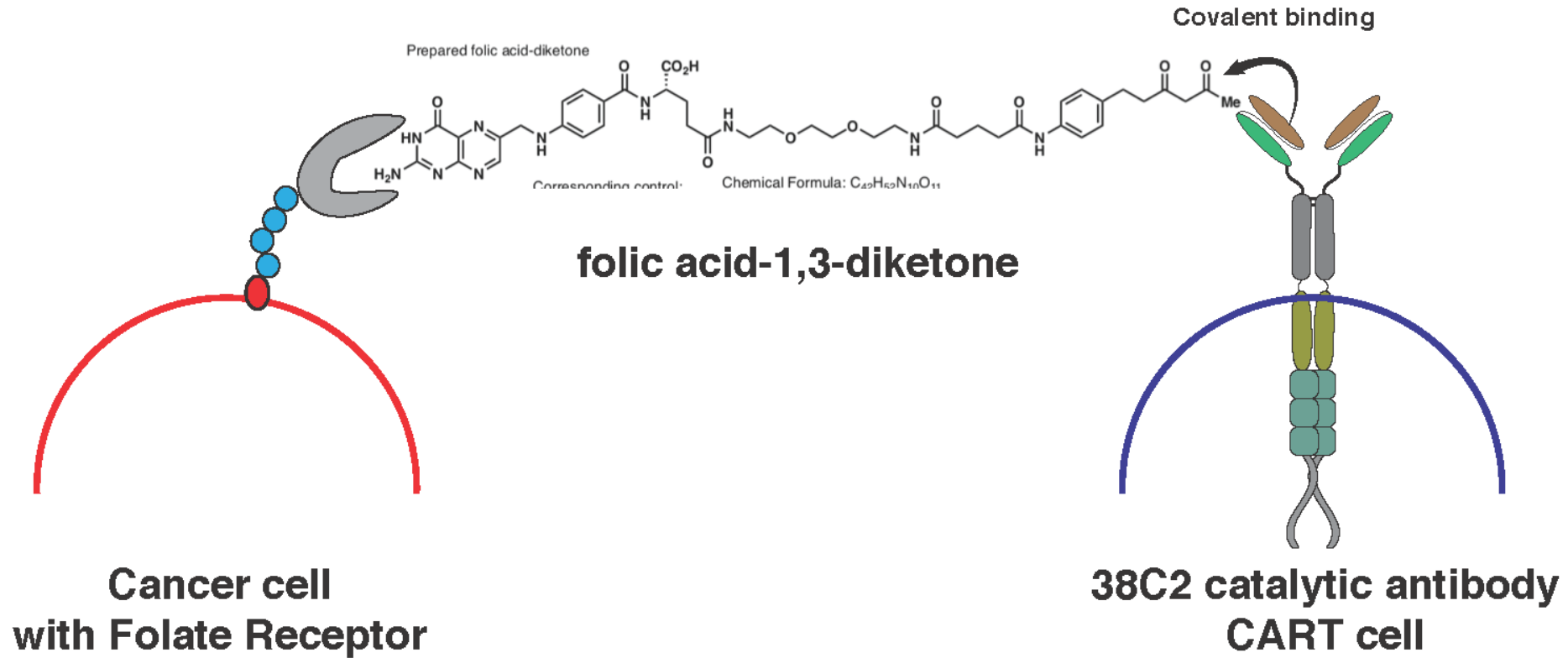
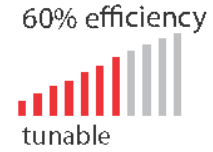
Stepanov et al. Science Adv., 2018

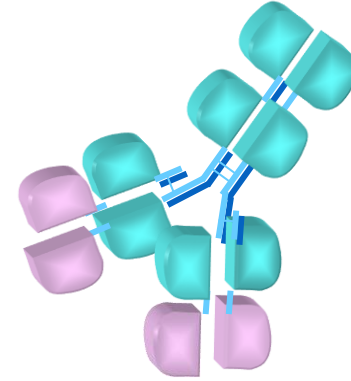
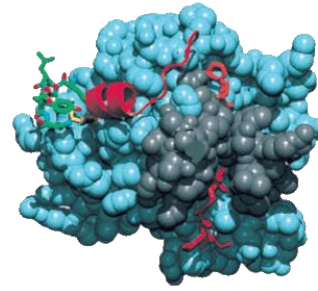
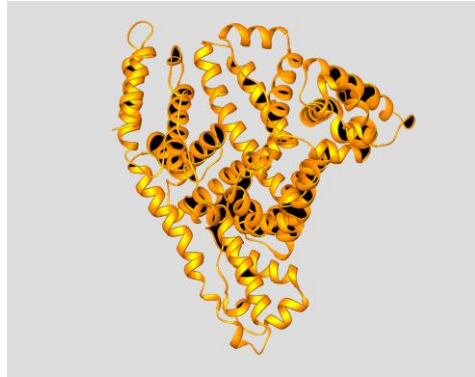
Jinqi Huang, Stepanov Alexey et al. Leukemia, 2019

Autocrine-based selection of ligands that target lymphoma cells utilizing redirected CTLs



Catalytic Chimeric Antigen Receptor for the Remote Control Over Therapeutic T Cells





Der Mensch als Industriepalast (Человек как промышленный дворец), Штутгарт, 1926 г. Хромолитография. Национальная медицинская библиотека. Фриц Кан (1888–1968) Модернистская визуализация Каном пищеварительной и дыхательной систем как «промышленного дворца», на самом деле химического завода.