

УДК 577.112:571.27

## СУЧАСНІ ТЕОРЕТИЧНІ МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ АНТИГЕННОЇ СТРУКТУРИ БІЛКІВ

Галкін О.Ю., к.б.н., доцент

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»

В огляді літератури проведено аналіз та порівняльну характеристику теоретичних методів епітопного картування антигенів білкової природи. Сформовано три групи методів прогнозування антигенної структури білкових молекул на основі аналізу їх первинної, вторинної та третинної структури. Найбільш простими методами є ті, що дозволяють прогнозувати лінійні епітопи: вони базуються на аналізі фізико-хімічних властивостей поліпептидного ланцюга (оцінка гідрофільності/гідрофобності та гнучкості різних сегментів, ідентифікація полярних ділянок за результатами рентгеноструктурного аналізу тощо). Для встановлення місцезнаходження конформаційних епітопів проводять прогнозування та аналіз даних щодо третинної структури білків, використовуючи різні методологічні прийоми: моделювання структури за принципом гомології, структурне вирівнювання з виявленням структурно-консервативних областей, вирівнювання послідовностей, визначення фолдингу, кластерний аналіз тощо. Найбільш поширеним на сьогодні є застосування комп'ютерних програм, які використовують декілька згаданих вище алгоритмів для прогнозування структури білків та локалізації антигенних детермінант.

*Ключові слова:* антигени, білки, антигенні детермінанти, епітопне картування

Галкин А. Ю. СОВРЕМЕННЫЕ ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ АНТИГЕННОЙ СТРУКТУРЫ БЕЛКОВ / Национальный технический университет Украины «Киевский политехнический институт», Украина.

В обзоре литературы проведен анализ и сравнительная характеристика теоретических методов эпитопного картирования антигенов белковой природы. Сформированы три группы методов прогнозирования антигенной структуры белковых молекул на основе анализа их первичной, вторичной и третичной структуры. Наиболее простыми методами являются те, что позволяют прогнозировать линейные эпитопы: они базируются на анализе физико-химических свойств полипептидной цепи (оценка гидрофильности/гидрофобности и гибкости различных сегментов, идентификация полярных участков по результатам рентгеноструктурного анализа и т.д.). Для установления местонахождения конформационных эпитопов проводят прогнозирование и анализ данных о третичной структуре белков используя различные методологические приемы: моделирование структуры по принципу гомологии, структурное выравнивание с выявлением структурно-консервативных областей, выравнивание последовательностей, определение фолдинга, кластерный анализ и т.д. Наиболее распространенным на сегодня является использование компьютерных программ, которые используют несколько упомянутых выше алгоритмов для прогнозирования структуры белков и локализации антигенных детерминант.

*Ключевые слова:* антигены, белки, антигенные детерминанты, эпитопное картирование

Galkin A. Yu. MODERN THEORETICAL METHODS FOR ANTIGENIC STRUCTURE OF PROTEINS STUDYING / National Technical University of Ukraine "Kyiv Polytechnic Institute", Ukraine.

The literature review and comparative analysis of theoretical methods of epitope mapping of protein antigens has been carried out. Three groups of methods for predicting of antigenic structure of proteins have been identified; they are based on comprehension of primary, secondary and tertiary proteins structure. The simplest methods are those that allow predicting linear epitopes: they are based on an analysis of physico-chemical properties of the polypeptide chain (score of hydrophilicity/hydrophobicity and flexibility of various segments, identification of the polar plots the results of X-ray analysis, etc.). To establish the location of conformational epitopes conduct forecasting and analysis of data on the tertiary structure of proteins using a variety of methodological techniques: modeling of the structure by homology principle, structural alignment with the identification of structurally conserved regions, alignment of sequences, folding definition, cluster analysis, etc. Today is the most common use of computer programs which are based on multiple aforementioned algorithms for the prediction of protein structure and localization of the antigenic determinants.

*Key words:* antigens, proteins, antigenic determinants, epitope mapping

### ВСТУП

Клітини імунної системи здійснюють розпізнавання та видалення з макроорганізму будь-якого біологічного матеріалу з ознаками генетичної чужорідності [1]. Імунокомпетентні

клітини реалізують свої фізіологічні властивості за рахунок спеціальних рецепторних структур, які розпізнають чужі клітини та тканини різного походження, віруси, біомолекули та їхні окремі частини, а також власні морфологічно аномальні структури. Речовини, які здатні зв'язувати антигенрозпізнавальні рецептори імунокомпетентних клітин, називають антигенами (АГ). Антигенність визначається не тільки внутрішніми властивостями самого антигену, але й здатністю його розпізнавання (ідентифікації як антигену) клітинами імунної системи організму-хазяїна [2]. Саме тому існує інше, функціонально відмінне, поняття – імуноген, яке адресоване до агентів, що здатні викликати імунні реакції макроорганізму, зокрема: формування гуморального (синтез антитіл) та клітинного імунітету, підвищену чутливість, імунну пам'ять та імунологічну толерантність [3]. До АГ належать віруси, бактерії, гриби, найпростіші, клітини й тканини, що потрапили до організму внаслідок інфекції, ін'єкції або трансплантації, а також клітинні стінки, цитоплазматичні мембрани, рибосоми, мітохондрії, окремі біополімери, що входять до їх складу, мікробні токсини, екстракти гельмінтів, отрути змій та комах, природні білкові речовини, деякі поліцукриди мікробного походження, рослинні токсини тощо [3].

Рецептори В- та Т-лімфоцитів не розпізнають весь антиген – вони здатні безпосередньо взаємодіяти лише з його окремим фрагментом, який називають епітопом (для В-лімфоцитів) або імуногенним пептидом (для Т-лімфоцитів) [2]. За таким механізмом гуморального імунітету В-лімфоцити та антитіла (імуноглобуліни) розпізнають нативний АГ у фізіологічному рідкому середовищі макроорганізму. Тому специфічні ділянки антигену, з якими реагують антитіла чи імуноглобулінові рецептори В-лімфоцитів, ще називають В-епітопами. У той же час Т-лімфоцити розпізнають попередньо процесінгований антиген, який втратив нативну форму. Частинки АГ, що утворилися внаслідок процесінгу (Т-епітопи), потрапляють на поверхню антигенпрезентувальних клітин та в комплексі з молекулами головного комплексу гістосумісності стають доступними для взаємодії з Т-лімфоцитами, що забезпечує реалізацію іншої ланки імунітету – клітинних реакцій [4].

Епітопи прийнято поділяти на лінійні (відповідають лінійній ділянці поліпептидного ланцюга молекули АГ) та конформаційні (містять амінокислотні залишки, що знаходяться на різних ділянках поліпептидного ланцюга молекули АГ, але зібрані в епітоп в результаті його упаковки в нативному білку) [5].

Як відомо, взаємодія антиген-антитіло відбувається за умов комплементарності паратопу антитіла та епітопу антигену. Реалізація принципу комплементарності для епітопів різного типу (В- та Т-епітопи) має відмінності. У випадку В-епітопів, що розпізнаються імуноглобуліновими рецепторами В-лімфоцитів, вирішальну роль відіграє їх просторова доступність для молекули рецептора: такі антигенні детермінанти мають знаходитися на поверхні білкової молекули [3,4]. Такі епітопи можуть бути як конформаційними, так і лінійними, та містять, зазвичай, 6-8 амінокислотних залишків (а.з.). Т-клітинні епітопи представляють собою лінійну послідовність амінокислотних залишків, що становлять частину молекули антигену, і включають більше число амінокислотних залишків у порівнянні з В-клітинними. Для їх розпізнавання збереження просторової конфігурації не є обов'язковим [6,7].

Встановлення антигенної будови білків є важливою задачею в контексті і фундаментальних, і прикладних досліджень у біології та медицині. Ідентифікація та характеристика антигенних детермінант дозволяє розширювати фундаментальні знання щодо структури та функцій білків-антигенів, закономірностей формування специфічного гуморального імунітету та молекулярних механізмів розвитку різноманітних патологічних станів [8-12]. Відповідні фундаментальні знання дають змогу вирішувати низку завдань прикладного характеру: проводити удосконалення вже існуючих та розробляти нові,

більш ефективні, вакцинні препарати [13,14]; підвищувати чутливість та специфічність методів і засобів для *in vitro* діагностики [8,10,15,16]; створювати більш ефективні та безпечні лікарські засоби для терапії різноманітних захворювань [17,18].

Метою нашої роботи було проведення літературного огляду, аналізу та порівняльної характеристики теоретичних методів вивчення антигенної структури білків.

### **ПРОГНОЗУВАННЯ ЛОКАЛІЗАЦІЇ АНТИГЕННИХ ДЕТЕРМІНАНТ ЯК РЕЗУЛЬТАТ АНАЛІЗУ ПЕРВИННОЇ СТРУКТУРИ БІЛКІВ**

Слід нагадати, що більшість білків є розчинними у водних розчинах та виконують свої функції саме в розчинній формі. При укладанні поліпептидного ланцюга їхніх молекул гідрофобні амінокислотні залишки взаємодіють один з одним, формуючи внутрішній простір молекули, у той час як гідрофільні а.з., головним чином, концентруються на поверхні молекули білкової молекули [19]. Розуміння принципів організації білкової молекули є передумовою для теоретичного прогнозування локалізації епітопів. Низка методичних підходів до передбачення локалізації антигенних детермінант білків-антигенів побудована на аналізі фізико-хімічних властивостей поліпептидного ланцюга. Одні з підходів передбачають оцінку гідрофільності різних ділянок поліпептидного ланцюга з наступною побудовою профілів гідрофільності: ділянки із максимальним значенням характеризуються найвищою вірогідністю бути антигенною детермінантою. Для оцінки гідрофільності олігопептидних ділянок використовують умовний коефіцієнт гідрофільності амінокислот та розраховують його середні значення для ділянок у 6-9 а.з., які з кроком в один а.з. перекривають весь поліпептидний ланцюг [20-22]. Коефіцієнт гідрофільності амінокислоти визначають за результатами її розподілу між полярною (вода) та неполярною (органічні розчинники) фазами [22] або часом утримування при постановці високоефективної рідинної хроматографії [23,24]. Інші підходи до теоретичного прогнозування локалізації антигенних детермінант передбачають ідентифікацію в білку поверхневих полярних трипептидних сегментів за результатами рентгеноструктурного аналізу [25,26] або оцінку гнучкості різних сегментів поліпептидного ланцюга [27,28]. Доволі цікавою є робота [29], у рамках якої доведено кореляційний взаємозв'язок між рухливістю амінокислотного залишку в поліпептидному ланцюгу (що знаходиться на поверхні білкової молекули) та частотою його мутацій під час еволюційного процесу від білка-попередника. У літературі [30-32] описаний також підхід до передбачення антигенної структури білків, що досліджуються, на підставі статистичного аналізу даних про будову антигенних детермінант вже досліджених білків. У рамках цієї методики розраховуються частоти зустрічальності амінокислот у відомих (уже досліджених емпіричним шляхом) епітопах та формується відповідний профіль вірогідності участі в антигенній детермінанті для кожної ділянки поліпептидного ланцюга.

*Вирівнювання послідовностей (sequence alignment)* – ще один методологічний підхід до моделювання структури білкової молекули, який заснований на розміщенні двох або більше послідовностей мономерів білків один під одним таким чином, щоб було легко побачити подібні ділянки в цих послідовностях [33,34]. Попарне вирівнювання використовують для знаходження збіжних ділянок двох послідовностей. Для підвищення швидкості пошуку використовують різні комп'ютерні програми, зокрема BLAST та FASTA3x [33,35]. *Множинне вирівнювання (multiple sequence alignment)* за суттю є попарним вирівнюванням всіх послідовностей у деякому наборі і знаходження найбільш «оптимального» загального вирівнювання. Застосовується переважно для знаходження консервативних регіонів у наборі послідовностей. Найбільш відомими програмами, що здійснюють множинне вирівнювання, є Clustal, T-coffee, MUSCLE і MAFFT [36,37].

### ПРОГНОЗУВАННЯ ЛОКАЛІЗАЦІЇ АНТИГЕННИХ ДЕТЕРМІНАНТ ЯК РЕЗУЛЬТАТ АНАЛІЗУ ВТОРИННОЇ СТРУКТУРИ БІЛКІВ

Доведено, що вторинна та третинна структура білка відіграють важливу роль у формуванні антигенних властивостей білків [3,38,39]. Різноманітні фізичні та хімічні фактори можуть кардинально впливати на антигенність білкових молекул. У денатурованому стані, тобто втративши нативну конформацію, білки не взаємодіють з імунними сироватками, специфічними до відповідних природних (неденатурованих) молекул. Отже, було сформовано припущення, що епітопи локалізуються (формуються), головним чином, на ділянках поліпептидного ланцюга, які характеризуються регулярною вторинною структурою (різні варіанти  $\alpha$ -спіралей та  $\beta$ -складчастих структур) [3,4,38,39]. У літературі [40-42] описано низку статистичних методів, які базуються на оцінці схильності різних амінокислот утворювати ті чи інші вторинні білкові структури. Вихідними даними для такого аналізу є результати вивчення кристалічної структури різних білків. Важливо зазначити, що ця група методів априорі містить похибку прогнозування, адже не враховуються взаємодії між амінокислотними залишками, розташованими далеко один від одного. Разом із тим, за даними різних авторів [40,43,44], точність методу знаходиться в діапазоні 50-77%. Доступність різних ділянок білкової молекули для взаємодії з антитілами, а отже, й вірогідність локалізації антигенних детермінант, визначається також конформацією бокових ланцюгів (ротамерів), яка зумовлюється обертанням бокових груп навколо  $C^{\alpha}$ -N-скелета [45,46].

### ПРОГНОЗУВАННЯ ЛОКАЛІЗАЦІЇ АНТИГЕННИХ ДЕТЕРМІНАНТ ЯК РЕЗУЛЬТАТ АНАЛІЗУ ТРЕТИННОЇ СТРУКТУРИ БІЛКІВ

Очевидно, що розуміння третинної структури білкової молекули дає можливість прогнозування місцезнаходження конформаційних епітопів. Важливо відзначити, що рутинні алгоритми щодо побудови третинної структури білків є вкрай трудомісткими, тому використовуючи вже отримані відомості про третинну структуру конкретних білків із використанням біохімічних, молекулярно-біологічних та біофізичних методів різними авторами розроблено чимало комп'ютерних програм із моделювання третинної будови білкових молекул. Зазвичай принцип роботи таких програм побудований на використанні декількох методичних підходів. У рамках цієї статті неможливо та недоцільно дати розгорнуту характеристику кожному з цих методів. Разом із тим, коротко зупинимося на найбільш застосованих.

Моделювання структури за *принципом гомології (homology modeling)* адресується до моделювання невідомої структури одного білка, на основі його гомології з іншим, для якого структура достеменно відома і підтверджена експериментальним шляхом (наприклад, за допомогою кристалографії чи ядерного магнітного резонансу). Для подібного моделювання необхідно мати певну базу даних для порівняння та аналізу структури білків.

Для моделювання третинної структури білка застосовують також різні комп'ютерні *методи кластеризації*, що дозволяють оцінювати ступінь функціональної схожості між білками. Отримані при цьому кластери являють собою просторові і функціональні об'єднання білків. Вони зіставляються з експериментально підтвердженими і описаними в спеціальних анотованих базах даних білків [47,48].

Однією з найбільш використовуваних є експертна система аналізу білків (Expert Protein Analysis System, ExPASy) Інституту біоінформатики Швейцарії, який містить посилання на низку баз даних (наприклад, neXtProt – білки людини, UniProtKB – функціональна інформація щодо білків, UniProtKB/Swiss-Prot – база послідовностей білків) та програмних ресурсів (наприклад, SWISS-MODEL Workspace – моделювання на основі структурної гомології, EasyProt – графічна платформа для аналізу білків) [49].

Найважливіше значення має й усього світу, і є доступним на безоплатній основі [50]. На увагу заслуговує також база даних нуклеїнових кислот та білків Європейської лабораторії молекулярної біології (EMBL). Надзвичайно цікавою є база епітопів (The Immune Epitope Database and Analysis Resource, IEDB), яка є зручним інструментом для дослідження антигенів, розробки методів діагностики, профілактики (створення вакцин) та лікування інфекційних та неінфекційних захворювань. База даних містить постійно поновлювальну інформацію щодо людини та тварин: білкові та небілкові епітопи інфекційних агентів, алергенів, аутоантигенів, трансплантаційних/алоантигенів [51]. Існує чимало інших баз даних структурної біології.

Структурне вирівнювання і виявлення структурно-консервативних областей білкової молекули проводять за таким алгоритмом [35,52]. Для суміщення структур у тривимірному просторі використовують координати тільки  $C^\alpha$  атомів. Критерієм оптимального поєднання структур є мінімальна величина середньоквадратичного відхилення відстаней між  $C^\alpha$  атомами. Якщо є тільки два відомі білка-гомолога, то структурне вирівнювання являє собою просту процедуру суміщення за методом найменших квадратів. У тих випадках, коли є три і більше структур-гомологів, здійснюється множинне суміщення шляхом виконання серії парних зважених середньоквадратичних суміщень. У результаті структурного вирівнювання визначаються структурно-консервативні області (Structurally conserved regions, SCR), тобто ті ділянки послідовностей, у яких три і більше амінокислотних залишків поєдналися в просторі з достатньою точністю (відстань між  $C^\alpha$  атомами  $< 3,5 \text{ \AA}$ ) [52] (рис. 1).

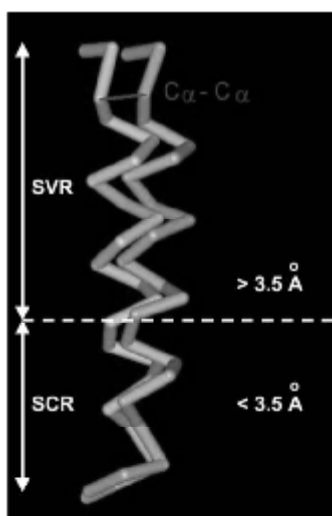


Рис. 1. Ілюстрація принципу структурного вирівнювання білків-гомологів на прикладі спірального фрагмента білка: просторове суміщення структур та визначення структурно-консервативних (SCR) і структурно-варіабельних областей (SVR) за відстанями між відповідними  $C^\alpha$  атомами [52]

Метод визначення фолдингу білкової молекули (*protein threading, fold recognition*) нагадує метод моделювання гомологів, проте не вимагає знаходження структур з високим ступенем ідентичності. Амінокислотну послідовність, третинну структуру якої необхідно визначити, «протягується» через всі можливі положення ланцюга у всіх відомих структурах із бази даних білків, і для кожної ітерації розраховується її вільна енергія. Структура з найкращими показниками за енергією приймається за шаблон, і далі моделювання відбувається аналогічно моделюванню гомологів [53,54]. До найбільш

поширених програмних ресурсів для визначення фолдингу білка належать HHpred, RAPTOR, RaptorX, Phyre, MUSTER, SPARKS X та BioShell [55-58].

Важливим є питання щодо точності описаних вище методів. У двох роботах [59,60] зроблено спробу кількісно порівняти точність встановлення локалізації антигенних детермінант із використанням різних методологічних підходів. Для цього обиралися модельні білки з детально вивченою антигенною структурою та піддавалися теоретичному прогнозуванню щодо локалізації антигенних детермінант. Точність теоретичного передбачення антигенної структури білків коливалася в діапазоні 50-70%.

Важливо зазначити, що ці дослідження проводилися більше ніж 20 років тому, та нам не вдалося знайти більш сучасних порівняльних даних. На нашу думку, така ситуація не є випадковою, адже всі згадані методичні підходи та алгоритми передбачення структури білкової молекули та її антигенних властивостей тією чи іншою мірою використовуються для створення комп'ютерних програм, що значно допомагає в пошуку антигенних детермінант білкової природи.

Подальші дослідження можуть бути спрямовані на проведення аналізу та порівняльної характеристики експериментальних методів вивчення антигенної структури білків.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Петров Р.В. Иммунология: учеб. для студ. мед. вузов / Р.В. Петров. – М.: Медицина, 1987. – 414 с.
2. Казмирчук В.Е. Клиническая иммунология и аллергология / Казмирчук В.Е., Ковальчук Л.В., Мальцев Д.В. – К.: Феникс, 2009. – 524 с.
3. Імунологія: підручник / [А.Ю. Вершигора, Є.У. Пастер, Д.В. Колибо та ін.]; передм. С. Комісаренка; за заг. ред. Є.У. Пастер. – К.: Вища школа, 2005. – 599 с.
4. Evstigneeva R.P. Methods of locating antigenic determinants of proteins with known primary structures / R.P. Evstigneeva, M.E. Pal'keeva // Russian J. Bioorg. Chem. – 2000. – V. 26 (4). – P. 217-234.
5. Sela M. Antigenicity some molecular aspects / M. Sela // Science. – 1969. – V. 166. – P. 1365-1374.
6. B and T cell epitope mapping and study the humoral and cell mediated immune response to B–T constructs of YscF antigen of Yersinia pestis / [Ali R., Kumar S., Naqvi R.A. et al.] // Comparative Immunol. Microbiol. Infect. Dis. – 2013. – V. 36 (4). – P. 365-378.
7. Zhang X.W. A combination of epitope prediction and molecular docking allows for good identification of MHC class I restricted T-cell epitopes / X.W. Zhang // Computational Biol. Chem. – 2013. – V. 45. – P. 30-35.
8. Linear B-cell epitope of the NS3-NS4-NS5 proteins of the HCV as modeled with synthetic peptides / [Khudyakov Yu. E., Khudyakova N.S., Jue D.L. et al.] // Virology. – 1995. – V. 206. – P. 666-672.
9. Chao G. Fine epitope mapping of anti-epidermal growth factor receptor antibodies through random mutagenesis and yeast surface display / G. Chao, J.R. Cochran, K.D. Wittrup // J. Mol. Biol. – 2004. – V. 342 (2). – P. 539-550.
10. Shreffler W.G. IgE and IgG4 epitope mapping by microarray immunoassay reveals the diversity of immune response to the peanut allergen, Ara h 2 / W.G. Shreffler, D.A. Lencer, L. Bardina // J. Allergy Clin. Immunol. – 2005. – V. 116 (4). – P. 893-899.
11. Mapping of conformational mAb epitopes to the C domain of human angiotensin I-converting enzyme / [Naperova I.A., Balyasnikova I.V., Schwartz D.E. et al.] // J. Proteome Res. – 2008. – V. 7 (8). – P. 3396-3411.

12. Conformational fingerprinting of the angiotensin I-converting enzyme (ACE). 1. Application in sarcoidosis / [Danilov S.M., Balyasnikova I.V., Danilova A.S. et al.] // *J. Proteome Res.* – 2010. – V. 9 (11). – P. 5782-5793.
13. Fine epitope mapping of monoclonal antibodies against hemagglutinin of a highly pathogenic H5N1 influenza virus using yeast surface display / [Han T., Sui J., Bennett A.S. et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Communications.* – 2011. – V. 409 (2). – P. 253-259.
14. T cell epitope identification for bovine vaccines: an epitope mapping method for BoLA A-11 / [De Groot A.S., Nene V., Hegde N.R. et al.] // *Int. J. Parasitol.* – 2003. – V. 33 (5-6). – P. 641-653.
15. Burnie J.P. The application of epitope mapping in the development of a new serological test for *Helicobacter pylori* infection / J.P. Burnie, A. Al-Dughaym // *J. Immunol. Meth.* – 1996. – V. 194 (1). – P. 85-94.
16. Linear IgE epitope mapping of the English walnut (*Juglans regia*) major food allergen, Jug r 1 / [Robotham J.M., Teuber S.S., Sathe S.K. et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2002. – V. 109 (1). – P. 143-149.
17. Glycoprotein B of Aujeszky's disease virus: topographical epitope mapping and epitope-specific antibody response / [Zaripov M.M., Morenkov O.S., Siklodi B. et al.] // *Research in Virology.* – 1998. – V. 149 (1). – P. 29-41.
18. Epitope mapping of antibodies to VlsE protein of *Borrelia burgdorferi* in post-Lyme disease syndrome / [Chandra A., Latov N., Wormser G.P. et al.] // *Clin. Immunol.* – 2011. – V. 141 (1). – P. 103-110.
19. Степанов В.М. Молекулярная биология. Структура и функции белков: учеб. / В.М. Степанов. – М.: Наука, 2005. – 336 с.
20. Hoop T.P. Prediction of protein antigenic determinants from amino acid sequences / T.P. Hoop, K.R. Woods // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1981. – V. 78. – P. 3824-3828.
21. Kyte J. A simple method for displaying the hydropathic character of a protein / J. Kyte, R.F. Doolittle // *J. Mol. Biol.* – 1982. – V. 157 (1). – P. 105-132.
22. Prediction of sequential antigenic regions in proteins / [Welling G., Weijer W., Zee R. et al.] // *FEBS Lett.* – 1985. – V. 188. – P. 215-218.
23. Parker J.M. New hydrophilicity scale derived from high-performance liquid chromatography peptide retention data: correlation of predicted surface residues with antigenicity and X-ray-derived accessible sites / J.M. Parker, D. Guo, R.S. Hodges // *Biochem.* – 1986. – V. 25 (19). – P. 5425-5432.
24. Intrinsic amino acid side-chain hydrophilicity/hydrophobicity coefficients determined by reversed-phase high-performance liquid chromatography of model peptides: comparison with other hydrophilicity/hydrophobicity scales / [Mant C.T., Kovacs J.M., Kim H.M. et al.] // *Biopolymers.* – 2009. – V. 92 (6). – P. 573-595.
25. Location of continuous antigenic determinants in the protruding of proteins / [Thornton J.M., Edwards M.S., Taylor W.R. et al.] // *EMBO J.* – 1986. – V. 5. – P. 409-413.
26. Parker J. Hydrophobicity of amino acid residues in globular protein / J. Parker, R. Hodges // *Peptide Res.* – 1991. – V. 4. – P. 347-363.
27. Westhof E. Correlation between segmental mobility and the location of antigenic determinants in proteins / E. Westhof, D. Altschuh, D. Moras // *Nature.* – 1984. – V. 311. – P. 123-126.
28. The reactivity of anti-peptide antibodies is a function of the atomic mobility of sites in a protein / [Tainer J.A., Getzoff E.D., Alexander H. et al.] // *Nature.* – 1984. – V. 312. – P. 127-134.

29. Frömmel C. Use of the averaged mutation rate in pieces of protein sequences to predict the location of antigenic determinants / C. Frömmel // *J. Theor. Biol.* – 1988. – V. 132 (2). – P. 171-177.
30. Van Regenmortel M.H. Structural and functional approaches to the study of protein antigenicity/ M.H. Van Regenmortel // *Immunol Today.* – 1989. – V. 10 (8). – P. 266-272.
31. Prediction of sequential antigenic regions in proteins / [Welling G.W., Weijer W.J., van der Zee R. et al.] // *FEBS Lett.* – 1985. – V. 188 (2). – P. 215-218.
32. Stern P.S. Predicting antigenic sites on proteins / P.S. Stern // *Trends Biotechnol.* – 1991. – V. 9 (5). – P. 163-169.
33. Mount D.M. *Bioinformatics: sequence and genome analysis.* – 2nd edition / D.M. Mount. – New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2004. – 550 p.
34. Baxevanis A.D. *Bioinformatics. A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins* / A.D. Baxevanis, B.F.F. Ouellette. – New Jersey: Wiley, 2005. – 530 p.
35. Интегральная платформа «От гена до прототипа лекарства in silico и in vitro» / [Иванов А.С., Веселовский А.В., Дубанов А.В. и др.] // *Российский химический журнал.* – 2006. – Т.50, №2. – С. 18-35.
36. Wang L. On the complexity of multiple sequence alignment / L. Wang, T. Jiang // *J. Comput. Biol.* – 1994. – V. 1 (4). – P. 337-348.
37. Just W. Computational complexity of multiple sequence alignment with SP-score / W. Just // *J. Comput. Biol.* – 2001. – V. 8 (6). – P. 615-623.
38. Tainer J.A. The atomic mobility component of protein antigenicity / J.A. Tainer, E.D. Getzoff, Y. Paterson et al. // *Annu. Rev. Immunol.* – 1985. – V. 3. – P. 501-535.
39. Prediction of antigenic epitopes on protein surfaces by consensus scoring / [Liang S., Zheng D., Zhang C. et al.] // *BMC Bioinformatics.* – 2009. – V. 10. – P. 302-312.
40. *Prediction of protein structure and the principles of protein conformation* / Edited by G.D. Fasman. – New York: Plenum Press, 1989. – 798 p.
41. Liu X. Prediction of protein secondary structure based on residue pairs / X. Liu, L.M. Zhang, W.M. Zheng // *J. Bioinform. Comput. Biol.* – 2004. – V. 2 (2). – P. 343-352.
42. Błazewicz J. Predicting secondary structures of proteins. Recognizing properties of amino acids with the logical analysis of data algorithm / J. Błazewicz, P.L. Hammer, P. Lukasiak // *IEEE Eng. Med. Biol. Mag.* – 2005. – V. 24 (3). – P. 88-94.
43. Argos P. The Chou-Fasman secondary structure prediction method with an extended data base / P. Argos, M. Hanei, R.M. Garavito // *FEBS Lett.* – 1978. – V. 93 (1). – P. 19-24.
44. Fujimoto T. A system for protein sequence analysis constructed on workstation / T. Fujimoto, H. Takahashi, Y. Kubota // *Bull. Inst. Chem. Res. (Kyoto Univ.).* – 1989. – V. 66 (4). – P. 386-397.
45. Kundrot C.E. Algorithms for calculating excluded volume and its derivatives as a function of molecular conformation and their use in energy minimization / Kundrot C.E., Ponder J.W., Richards F.M. // *J. Comput. Chem.* – 1991. – V. 12. – P. 402-409.
46. Sung S.S. Molecular dynamics simulations of helix folding: The effects of amino acid substitution / S.S. Sung, X.W. Wu // *Biopolymers.* – 1997. – V. 42 (6). – P. 633-644.
47. Arnau V. Iterative cluster analysis of protein interaction data / V. Arnau, S. Mars, I. Marín // *Bioinformatics.* – 2005. – Vol. 21 (3). – P. 364-378.
48. Kaur R.K. Using cluster analysis for protein secondary structure prediction / R.K. Kaur, M. Kaur, A. Kaur // *Int. J. Comp. Appl.* – 2010. – V. 4 (12). – P. 20-22.



49. Gasteiger E. ExPASy: The proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis / E. Gasteiger, A. Gattiker, C. Hoogland et al. // *Nucleic Acids Res.* – 2003. – V. 31 (13). – P. 3784-3788.
50. Berman H.M. The Protein Data Bank / H.M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng et al. // *Nucleic Acids Res.* – 2000. – V. 28 (1). – P. 235-242.
51. Vita R. The curation guidelines of the immune epitope database and analysis resource / R. Vita, B. Peters, A. Sette // *Cytometry A.* – 2008. – V. 73 (11). – P. 1066-1070.
52. Иванов А.С. Компьютерное моделирование пространственной структуры цитохромов P450: проблемы и перспективы / А.С. Иванов, В.С. Скворцов, А.А. Сеченых и др. // *Биомедицинская химия.* – 2003. – № 3. – С.221-236.
53. Rost B. Protein fold recognition by prediction-based threading / B. Rost, R. Schneider, C. Sander // *J. Mol. Biol.* – 1997. – V. 270. – P. 471-480.
54. Söding J. Protein homology detection by HMM-HMM comparison // *Bioinformatics.* – 2005. – V. 21 (7). – P. 951-960.
55. Wu S. MUSTER: Improving protein sequence profile-profile alignments by using multiple sources of structure information / S. Wu, Y. Zhang // *Proteins.* – 2008. – V. 72 (2). – P. 547-556.
56. Yang Y. Improving protein fold recognition and template-based modeling by employing probabilistic-based matching between predicted one-dimensional structural properties of query and corresponding native properties of templates / Y. Yang, E. Faraggi, H. Zhao et al. // *Bioinformatics.* – 2011. – V. 27 (15). – P. 2076-2082.
57. Ma J. A conditional neural fields model for protein threading / J. Ma, J. Peng, S. Wang et al. // *Bioinformatics.* – 2012. – V. 28 (12). – P. 59-66.
58. Gront D. BioShell Threader: protein homology detection based on sequence profiles and secondary structure profiles / D. Gront, M. Blaszczyk, P. Wojciechowski et al. // *Nucleic Acids Res.* – 2012. – V. 40. – P. W257-W262.
59. Van Regenmortel M.H. An assessment of prediction methods for locating continuous epitopes in proteins / M.H. Van Regenmortel, D.G. de Marcillac // *Immunol. Lett.* – 1988. – V. 17. – P. 95-107.
60. Ermácora M.R. Secondary structure prediction of 11 mammalian growth hormones / M.R. Ermácora, J.L. Rivero // *Int. J. Pept. Protein Res.* – 1988. – V. 32 (3). – P. 223-229.

УДК 616.61-089.843-008-036.12:577.15]-07

## **ІНТЕНСИФІКАЦІЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ ПРИ ХРОНІЧНІЙ ДИСФУНКЦІЇ НИРКОВОГО АЛОТРАНСПЛАНТАТУ ЯК МАРКЕР ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ**

Єфіменко Н.Ф., к.б.н., доцент, Траїлін А.В., д.м.н., доцент, Плетень М.В., ст. викладач,  
\*Остапенко Т.І., к.м.н, лікар

*Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України, \* Запорізька обласна  
клінічна лікарня ЗОР.*

Метою дослідження було вивчення інтенсивності процесів перекисного окислення ліпідів і білків, стану антиоксидантної системи (АОС) і системи оксиду азоту сечі і периферичної крові як маркерів оксидативного стресу в реципієнтів із хронічною дисфункцією ниркового алотрансплантату (НАТ). Встановлено, що оксидативний стрес є одним із механізмів формування,