



УДК 547.964.4:577.322.9

**СТРУКТУРНОЕ СХОДСТВО И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ
ФРАГМЕНТОВ МОЛЕКУЛ СТАФИЛОКОККОВОГО
ЭНТЕРОТОКСИНА В И ТИМОПОЭТИНА II***Вегнер Р. Э., Ритула И. Р., Чипенс Г. И., Дуплицева А. И.*
Мыслякин Е. Б.*, Зайцева Л. Г.*, Тумаян М. А.***Институт органического синтеза Академии наук ЛатвССР, Рига;*** Институт эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи
Академии медицинских наук СССР, Москва*

При поиске гомологий между первичными структурами пептидов и белков экзо- и эндогенного происхождения, влияющих на иммунный ответ организмов, мы выявили сходство С-концевых аминокислотных последовательностей стафилококкового энтеротоксина В (SEB) [1] и гормона тимуса тимопоэтина II (ТР) [2]. Согласно [3], биологические функции пептидов обуславливают наборы свойств (сигнатуры) аминокислотных остатков, которые в определенных ситуациях лиганд-рецепторного взаимодействия могут быть одинаковыми для аминокислот различного строения (принцип эквивокации). Эквивоканальность различных аминокислотных остатков (например, Val, Ile, Pro и Gly; Arg, Lys и Gln; Glu, Gln и Asp и др. [3]) однозначно определяется индивидуальной структурой рецепторных комплексов и условиями внешней среды. Сопоставление С-концевых структур SEB и ТР на основе этих принципов позволяет выделить гомологичные участки молекул, обладающие сходными гидрофобно-гидрофильными и кислотно-основными профилями: SEB 224—239 и ТР 31—49 (рисунок). Можно предположить, что сходство столь длинных фрагментов токсина бактерии и гормона иммунной системы не является случайностью, а возникло в процессе конвергентной эволюции и отражает какие-то общие механизмы действия этих соединений на молекулярном уровне.

Стафилококковые энтеротоксины принадлежат к группе бактериальных токсинов, вызывающих симптомы острого пищевого отравления. SEB подавляет реакции клеточного и гуморального иммунитета, активируя клетки Т-супрессоры [4]. ТР влияет на ранние стадии развития Т- и В-клеток, а также на активность зрелых лимфоцитов. Активный центр ТР — пентапептид последовательности 32—36, Arg-Lys-Asp-Val-Tyr (тимопентин) в значительной степени сохраняет активность природного гормона в различных тест-системах [5]. Поэтому особый интерес вызывает расположение идентичных и потенциально эквивоканальных аминокислотных остатков в участке структуры SEB, соответствующем активному центру ТР (SEB 225—229 или SEB 229—333).

Для установления возможного функционального значения сходства структур SEB и ТР нами проведен синтез и исследование их фрагментов и гибридных структур, содержащих общий для SEB и ТР остаток трипептида и один или оба примыкающие к нему остатка аминокислот (соединения I—V, таблица). В пентапептиде (I) для повышения его ферментативной устойчивости α -аминогруппа ацетилирована, а в гексапептиде (II) элиминирована. Пептиды синтезированы твердофазным методом и очищены ВЭЖХ в водно-органических системах, содержащих ацетат аммония.

Для общей характеристики иммунологической активности полученных соединений определено их влияние на неспецифическую резистентность мышей к инфекции (Kl. pneumoniae, штамм Capsularia) [6]; гиперчувст-

Характеристика и иммунологическая активность фрагментов SEB, TP и их аналогов

Номер пептида	Соединение	Характеристика соединений			Биологическая активность соединений				
		$[\alpha]_D^{20}$, град ^{2*}	R_f^{3*}	E_{415}^{4*} His	резистентность к инфекции	влияние на реакцию ГЭТ	содержание белка в клетках МФС ^{5*}	титр гематоглининов ^{6*}	
I	Ацепил-SEB 225-229 Ac-Ser-Lys-Asp-Val-Lys	-62,0	0,65(1)	1,42	6,00	2,30	4,54	0,75	
II	Дезамино-SEB 224-229 * Suc-Ser-Lys-Asp-Val-Lys	-43,3	0,37(2)	1,39	4,00	1,24	2,87	1,80	
III	SEB 225-228 Ser-Lys-Asp-Val	-33,7	0,24(2)	0,85	0,25	2,00	0,90		
IV	SEB 226-229 Lys-Asp-Val-Lys	-30,7	0,17(2)	2,31	0,60	2,80	3,30	1,57	
V	Гибридный пептапептид Arg-Lys-Asp-Val-Lys	-34,8	0,14(3)	0,26	0,06	4,38	1,38	0,96	
VI	Тимоментин Arg-Lys-Asp-Val-Tyr	-18,0	0,93(1)	1,10	0,26	4,30	0,83	2,00	
	Контроль (физиологический раствор)	-	-	-	4,00	4,00	4,00	1,00	

* Suc — 3-карбоксихипропионил.

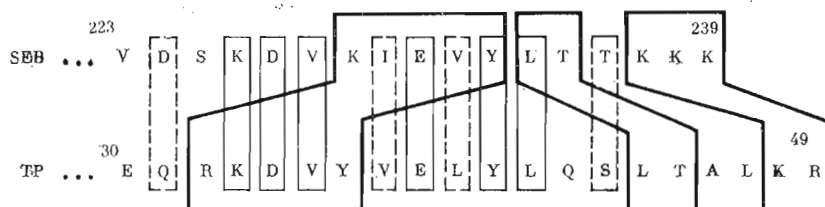
^{2*} с 0,5, 1 М уксусная кислота.

^{3*} ТСХ на пластинках Shufol (ЧССР) в системах: 1) пиридин — уксусная кислота — вода — этилацетат, 20 : 6 : 11 : 30; 2) хлороформ — уксусная кислота — вода, 5 : 6 : 2; 3) пиридин — уксусная кислота — вода — этилацетат, 3 : 1 : 2 : 5.

^{4*} Электрофорез на бумаге FN-16 (ГДР) в 1 М уксусной кислоте при градиенте потенциала 18 В/см.

^{5*} Через 1 ч после введения пептида.

^{6*} Через 3 сут после иммунизации животных.



Сравнение С-концевых аминокислотных последовательностей стафилококкового энтеротоксина В (SEB) и тимопоэтина II (ТР). Идентичные (сплошные линии) и гомологичные (штриховые линии) аминокислотные остатки и сегменты даны в рамках («вертикальное» сопоставление). Активный центр ТР и его предполагаемый функциональный эквивалент в молекуле SEB подчеркнуты

вительность замедленного типа (ГЗТ) у мышей, сенсibilизированных эритроцитами барана [7]; интенсивность синтеза белка в клетках моноцитарной фагоцитирующей системы (МФС) [8]; гуморальный иммунный ответ по титрам гемагглютининов.

Из таблицы видно, что фрагменты SEB обладают широким спектром иммунологических эффектов и по активности в отдельных тестах превосходят тимопентин (VI). Наиболее интересно то, что фрагменты SEB (I, II) увеличивают неспецифическую резистентность животных к инфекции, в то время как тимопентин (VI) и гибридный пептид (V) практически неактивны. Сопоставление структур исследованных соединений показывает, что существенным структурным элементом, определяющим высокие значения коэффициента резистентности соединения (I), является остаток серина, содержащий оксигруппу. Полученные результаты по определению иммунологической активности фрагментов SEB свидетельствуют в пользу предположения, что в С-концевой аминокислотной последовательности расположены иммунологически активные центры молекул SEB.

ЛИТЕРАТУРА

1. Huang I.-Y., Bergdoll M. S. J. Biol. Chem., 1970, v. 245, № 14, p. 3518-3525.
2. Audhya T., Schlesinger D. H., Goldstein G. Biochemistry, 1981, v. 20, № 21, p. 6195-6200.
3. Чипенс Г. И., Вереженникова Н. И., Никифорович Г. В. Изв. АН ЛатвССР, 1983, № 8, с. 65-71.
4. Donnelly R. P., Rogers T. J. Cell. Immunol., 1982, v. 72, № 1, p. 166-177.
5. Goldstein G., Scheid M. P., Boyse E. A., Schlesinger D. H., Van Wauwe J. Science, 1979, v. 204, № 4399, p. 1309-1310.
6. Туманян М. А., Дуплищева А. П., Сицлова Н. Г., Серебренникова Г. А., Клыков В. Н. Вопр. мед. хим., 1981, т. 27, № 3, с. 372-376.
7. Kitamura K. J. Immunol. methods, 1980, v. 39, p. 277-283.
8. Ромашевская Е. Н., Хасман Э. Л., Морарь Т. Ф., Каулен Д. Р. Иммунология, 1983, № 5, с. 55-58.

Поступило в редакцию
24.VI.1986

STRUCTURAL SIMILARITY AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF MOLECULAR FRAGMENTS OF THE *STAPHYLOCOCCUS ENTEROTOXIN* AND THYMOPOIETIN 2

VEGNER R. E., RITUMA I. P., CHIPENS G. I., DUPLISHCHEVA A. P., MYSIAKIN E. B., ZAITSEVA L. G., TUMANJAN M. A.

Institute of Organic Synthesis, Academy of Sciences of the Latvian SSR, Riga; N. F. Gamaleya Institute of Epidemiology and Microbiology, Academy of Medical Science of the USSR, Moscow

Structural similarity between *Staphylococcus enterotoxin* B and a thymus hormone, thymopoietin, has been revealed concerning thymopenttin, one of active centres of thymopoietin. Fragments of enterotoxin B homologous to thymopoietin and their analogues were synthesized their immunological activity studied. Acetyl derivative of the fragment 225-229 of enterotoxin B increased infectional resistance and stimulated delayed type of hypersensitivity reaction.