

ГЛИКОЭРРЕЙ В ИЗУЧЕНИИ ГЛИКАН-БЕЛКОВОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

© 2019 г. Н. В. Шилова^{1,2,3*}, Н. Р. Хасбиуллина^{1,3,4}, А. Ю. Нокель^{1,3},
М. М. Зиганшина¹, Н. В. Бовин²

*E-mail: pumatnv@gmail.com.

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

²ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова» РАН, Москва, Россия;

³ООО «Семиотик», Москва, Россия;

⁴ФГБУН «Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского» РАН, Москва, Россия

Поступила: 26.02.2019. Принята: 11.03.2019

Представлены возможности гликоэррея – уникального метода для изучения углеводов-связывающих белков, к которым относятся основные компоненты иммунной системы млекопитающих – антитела и лектины. Показано, что эррей является гибким инструментом и может быть направленно изменен для решения широкого круга разнообразных задач как фундаментального, так и прикладного характера.

Ключевые слова: гликоэррей, гликаны, углевод-белковое взаимодействие, лектины, антитела

DOI: 10.31857/S102872210006496-0

Адрес: 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4, ФГБУ «Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова», Шилова Надежда Владимировна.
Тел.: 89169257895 (моб.).

E-mail: pumatnv@gmail.com

Авторы:

Шилова Н. В., к.х.н., с.н.с. отдела химической биологии гликанов и липидов ФГБУН «Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова» РАН; с.н.с. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова»; главный специалист по микрочипам ООО «Семиотик», Москва, Россия;

Хасбиуллина Н. Р., м.н.с. лаборатории химии углеводов ФГБУН «Института органической химии им. Н. Д. Зелинского»; н.с. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова»; специалист по микрочипам ООО «Семиотик», Москва, Россия;

Нокель А. Ю., к.х.н., с.н.с. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова»; главный инженер ООО «Семиотик», Москва, Россия;

Зиганшина М. М., к.б.н., с.н.с. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова», Москва, Россия;

Бовин Н. В., д.х.н., заведующий отделом химической биологии гликанов и липидов ФГБУН «Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова» РАН, Москва, Россия.

Основными белками иммунной системы млекопитающих являются иммуноглобулины. Самыми малоизученными из них остаются естественные антитела (eAT), т.е. антитела, появляющиеся без предварительной иммунизации, уровень которых практически не изменяется на протяжении жизни. Значительную часть пула eAT составляют антитела к гликанам (AGAT). Не менее важными для иммунной системы являются эндогенные лектины – углевод-связывающие белки не иммунной природы.

Исследование специфичности AGAT и лектинов было ограничено из-за недоступности необходимых библиотек углеводовных лигандов. С появлением гликоэррея (PGA, printed glycan array) это стало возможным. Эррей наносится на слайд размером с предметное стекло, результат читается с помощью флуоресцентного ридера. Благодаря PGA было проведено систематическое исследование репертуара AGAT у более 100 доноров [1]. Было установлено, что спектр

АГАТ человека очень широк и может быть разделен на 3 основные группы: 1) консервативные АГАТ, присутствующие в крови практически всех людей и обладающие сходной специфичностью и содержанием; 2) аллоантитела к группоспецифическим антигенам крови и антитела к ксено-антигенам; 3) пластичные антитела, уровень которых может изменяться при различных состояниях организма (болезнь, беременность и т.д.). Происхождение и функции АГАТ остаются пока малоизученными, однако, на основании полученных с помощью PGA данных в сочетании с данными литературы, было сделано предположение, что они могут выполнять надзорную функцию, элиминируя постоянно появляющиеся трансформированные клетки с aberrантным гликозилированием [1]. Было показано, что АГАТ, детектируемые с помощью представительного PGA, являются перспективными маркерами для диагностики сложных системных заболеваний, например, колоректального рака [2] и серьезной патологии беременности – преэклампсии [3] с хорошими показателями чувствительности и специфичности. Так же, с помощью PGA мы показали, что только часть антител сыворотки крови человека способны взаимодействовать с белком системы комплемента, т.е. АГАТ, по-видимому, могут реализовывать надзорную функцию не только по классическим, но и по неканоническим механизмам. Сравнение специфичности АГАТ, выделенных с помощью аффинной хроматографии из сывороток крови человека, с моноклональными антиуглеводными антителами показало, что способность связывать полисахариды наряду с олигосахаридами является, по-видимому, отличительной способностью еАТ. Данное наблюдение согласуется с выдвинутой ранее гипотезой о происхождении еАТ как результата стимуляции их появления микробиотой ЖКТ в первые годы жизни человека [1].

PGA позволяет проводить систематическое изучение специфичности лектинов – весьма представленной в организмах млекопитающих группы белков, входящей в систему как врожденного, так и адаптивного иммунитета. С помощью гликоэррея были исследованы паттерны специфичности галектина-8 – как дикого типа, так и его гомодимера, состоящего из одинаковых N-углевод-связывающих доменов. Наблюдаемые изменения в полученных профилях позво-

лили понять, как можно влиять на функционирование углевод-связывающих доменов этого лектина [4]. Кроме того, мы показали, что с помощью гликоэррея можно изучать специфичность лектинов не только как индивидуальных белков, но и непосредственно на поверхности клетки, например, моноцитов крови человека, бактериальных клеток и клеток ряда клеточных линий, для чего были сконструированы эрреи с заданными свойствами, как, например, PGA с увеличенным размером спотов и более высокой концентрацией лиганда.

Таким образом, гликоэррей является гибким инструментом и может быть использован для решения широкого круга разнообразных задач как фундаментального, так и прикладного характера.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-04-00749.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Бовин Н. В.* Естественные антитела к гликанам. Биохимия. 2013, 78(7), 1008. [*Bovin N. V.* Natural antibodies to glycans. Biochemistry (RUS). 2013, 78(7), 1008].
2. *Зиганшина М. М., Шилова Н. В., Хасбиуллина Н. Р., Ракитко А. С., Тютюнник Н. В., Мантрова Д. А., Тютюнник В. Л., Бовин Н. В., Сухих Г. Т.* Спектр и диагностическое значение антигликановых антител, выявляемых при развитии больших акушерских синдромов, связанных с дефектами плацентации. Росс. Аллергол. Журн. 2018, 15(1), 37. [*Ziganshina M. M., Shilova N. V., Khsbiullina N. R., Rakitko A. S., Tyutyunnik N. V., Mantrova D. A., Tyutyunnik V. L., Bovin N. V., Sukhih G. T.* Spectrum and diagnostic value of anti-glycan antibodies detected at big obstetrical syndrome development connected with defects of placentation. Russ. Allerg. J. (RUS) 2018, 15(1), 37.]
3. *Butvilovskaya V. I., Popletaeva S. B., Chechetkin V. R., Zubitsova Z. I., Tsybul'skaya M. V., Samokhina L. O., Vinitskii L. I., Ragimov A. A., Pozharitskaya E. I., Grigor'eva G. A., Meshalkina N. Y., Golysheva S. V., Shilova N. V., Bovin N. V., Zasedatelev A. S., Rubina A. Y.* Multiplex determination of serological signatures in the sera of colorectal cancer patients using hydrogel biochips. Cancer Med. 2016. 5(7), 1361.
4. *Ludwig A. K., Michalak M., Shilova N., André S., Kaltner H., Bovin N. V., Kopitz J., Gabius H. J.* Studying the Structural Significance of Galectin Design by Playing a Modular Puzzle: Homodimer Generation from Human Tandem-Repeat-Type (Heterodimeric) Galectin-8 by Domain Shuffling. Molecules. 2017, 22(9), 1572.

GLYCOARRAYS FOR STUDYING OF GLYCAN-PROTEIN INTERACTION

© 2019 N. V. Shilova^{1,2,3*}, N. R. Khasbiullina^{1,3,4}, A. Yu. Nokel^{1,3},
M. M. Ziganshina¹, N. V. Bovin²

*E-mail: pumatnv@gmail.com.

¹National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow, Russia;

²Federal Budget Institution of Science «M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry», Moscow, Russia;

³Semiotik LLC, Moscow, Russia;

⁴Federal Budget Institution of Science «N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry», Moscow, Russia

Received: 26.02.2019. Accepted: 11.03.2019

The capacities of glycoarray – a unique method for investigation of carbohydrate-binding proteins including antibodies and lectins – are presented. It was shown that array is very flexible device and it can be directional changed for solution of a wide range of different tasks of both fundamental and applied nature.

Key words: glycoarray, glycans, glycan-protein interaction, lectins, antibodies

Authors:

Shilova N. V., ✉ PhD, senior scientist of Department of chemical biology of glycans and lipids M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry; senior scientist of laboratory of clinical immunology National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov; chief microchip specialist of Semiotik LLC, Moscow, Russia. E-mail: pumatnv@gmail.com;

Khasbiullina N. R., junior scientist of laboratory of carbohydrate chemistry Zelinsky Institute of Organic Chemistry; staff scientist of laboratory of clinical immunology National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov; microchip specialist of Semiotik LLC, Moscow, Russia;

Nokel A. Yu., PhD, senior scientist of laboratory of clinical immunology National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov; chief engineer of Semiotik LLC, Moscow, Russia;

Ziganshina M. M., PhD, senior scientist of laboratory of clinical immunology Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov, Moscow, Russia;

Bovin N. V., Dr. habil., professor, chief of Department of chemical biology of glycans and lipids M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow, Russia.